

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-097857

(43)Date of publication of application : 20.04.1993

(51)Int.Cl.

C07D487/22

A61K 31/40

A61K 41/00

A61K 49/00

(21)Application number : 03-323597

(71)Applicant : TOYO HATSUKA KOGYO KK

(22)Date of filing : 04.10.1991

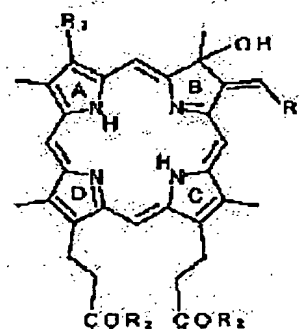
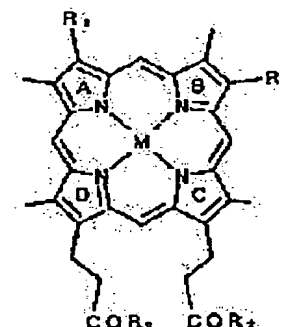
(72)Inventor : SAKATA ISAO
NAKAJIMA SUSUMU
KOSHIMIZU KOICHI
TAKADA HIROYUKI
INUI YASUSHI

(54) PORPHYRIN DERIVATIVE AND ITS USE

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a new (metallo)porphyrin useful as a sensitizer for photo- physico-chemical diagnosis and therapy (PDT) composed of single component, being excellent instability, water-solubility and accumulation to cancer tissue and quickly releasable from normal tissue to enable the reduction of phototoxicity.

CONSTITUTION: The compound of formula I [R1 is CH(OR)CH3; R is alkyl; R2 is residue obtained by removing H from amino acid; M is 2H, Ga, Zn, etc.], its metal complex or a compound of formula II [R2 is OH, amino acid residue, etc.; R3 is CH=CH2, CH(OR)CH, etc.; R4 is CHO, CH(OH)OSO2Na, etc.] (including the position isomer obtained by exchanging the functional groups on the side chains of the ring A and the ring B), e.g. 2,4-bis(1-propoxyethyl)- deuteroporphinyl-diaspartic acid. The compound of formula I can be produced by introducing a metal to a porphyrin compound having R1 and bonding an amino acid residue R2 to the product. The compound has an absorption wavelength of $\leq 600\text{nm}$ and $\geq 670\text{nm}$ to enable the use of a titanium sapphire laser.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

03.12.1997

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the
examiner's decision of rejection or application
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

3191223

[Date of registration]

25.05.2001

[Number of appeal against examiner's decision of
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

[JP,05-097857,A]

*** NOTICES ***

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

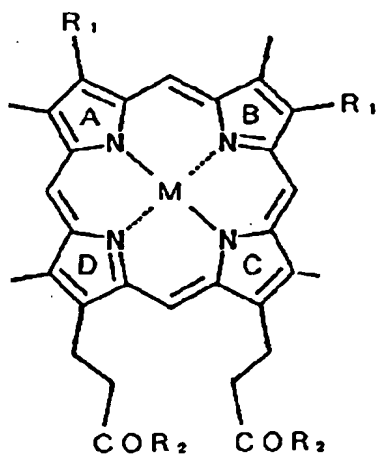
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] General formula (I) The porphyrin compounds shown by-izing 1 (alkyl and M are the residue R1 was excluding CH(OR) CH3 among the formula, and excluding [R2] hydrogen from amino acid, and R is 2H, and Ga, Zn, Pd, In and Sn), or those metal complexes.

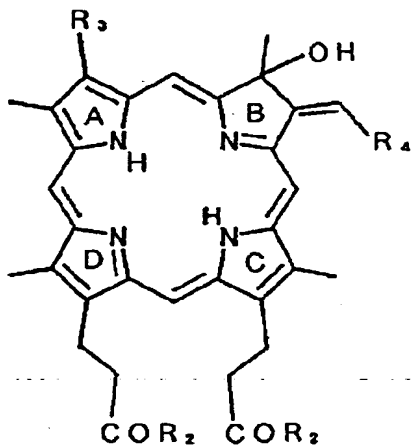
[Formula 1]



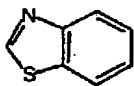
[Claim 2] formation 2 (it CH(s) the inside of a formula, and R3 — CH=CH [2] and CH (OR) —) of general formula (II) CHO, CH=NOH, or CH2OH R4 CH=X, C(OH) OSO2Na, CH (SCH2-COOH)2, CH (OR)2 or ** 3, and X O, C (CN)2, N-W, or C(Y) Z W OH, OCOCH3, or NH-E, E H, alkyl, COC5H4N, CONH2, CSNH2 and COOCH3, COCH2NCI (CH3)2, or C(NH2) =NH, Y is H or alkyl. Cyclic structure which shows Z by NO2, COF, or ** 4, It is the residue F was excluding the residue of methyl, phenyl, aminophenyl, or ionone, and excluding [R2] hydrogen from OH, aminosugar, or amino acid. R is a

porphyrin compound shown by alkyl. (However, the functional group of the side chain of B ring also contains among a formula the position isomer which interchanged, respectively among [A] four tetrapyrrole rings.)

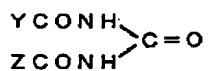
[Formula 2]



[Formula 3]



[Formula 4]



[Claim 3] The object for an optical physicochemical diagnosis and/or the sensitizer for a therapy which consist of a porphyrin and a metalloporphyrin compound claim 1 and given in two.

[Claim 4] The sensitizer for optical physical chemistry according to claim 3 used for a diagnosis and/or therapy of cancer.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention relates to the drugs which use a porphyrin derivative, its application, a new porphyrin, and a metalloporphyrin derivative for the diagnosis and therapy of cancer by the sensitizer and/or the optical physical chemistry for the object for an optical physicochemical diagnosis, and a therapy which are made into an active principle especially.

[0002]

[Description of the Prior Art] The optical physicochemical diagnostic therapy (PDT) is performed as a new cure for cancer. After this prescribing a porphyrin compound of a certain kind for the patient by approaches, such as an intravenous injection, and making it hold it in a cancer organization, it irradiates laser light and it destroys only a cancer organization alternatively. PDT uses two properties in which the time amount held in the cancer organization of a porphyrin has the property in which it is long compared with normal tissue, and a photosensitization operation. In the past 13 years, 3000 or more people are treated for the malignant tumor by PDT all over the world, and it was established as one of the cancer treatments. Retina cancer, skin carcinoma, an esophagus cancer, superficialness vesical cancer, early lung cancer, etc. are going across the cancer type it is reported by PDT that good treatment results are variably.

[0003] The drugs currently used for current PDT are mainly the dimers of a hematoporphyrin derivative (HPD) and its ether object, and/or an ester object. HPD is mixture which carries out vitriolization in an acetic acid of the hematoporphyrin, and is processed and obtained by 0.1 moreN sodium hydroxide. The hydrophobic high component of HPD is mainly included, with HPD, a dimer is complicated mixture and its active ingredient is unknown. Moreover, since the component ratio is not fixed, a curative effect is very unstable.

[0004] On the other hand, R1 as a new porphyrin derivative for PDT A low-grade alkyl group, That whose R2 is a quarternary-ammonium-salt derivative JP,1-246286,A, To No. 145283 [Showa 63 to], No. 205082 [Showa 62 to], and No. 167783 [Showa 62 to] What is the derivative which had ether linkage as R1 JP,62-249986,A, It is indicated by [Br.J.Cancer, 55,483 (1987)] by No. 246580 [Showa 62 to], No. 246579 [Showa 62 to], No. 205081 [Showa 62 to], and J.F.Evensen and others. Moreover, a

porphyrin dimer derivative is indicated by a U.S. Pat. No. 4649151 number (1987), JP,62-63586,A, and No. 500132 [Showa 60 to, and the porphyrin metal complex is indicated for the chlorin derivative by JP,1-250381,A, No. 290881 / Showa 63 to, No. 5986 / Showa 62 to, No. 5985 / Showa 62 to, No. 5924 / Showa 62 to, No. 5912 / Showa 62 to, No. 981 / Showa 58 to /, and No. 185220 / Showa 57 to / at JP,1-221382,A, No. 104987 / Showa 63 to, and No. 31688 / Showa 57 to /. Many things were examined, the porphyrin metal complex has been indicated to JP,2-138280,A, Taira No. 76881 [two to], No. 182663 [Showa 62 to], No. 174079 [Showa 62 to], and No. 83185 [Showa 61 to], and we have also indicated the bacteriochlorin derivative for the chlorin derivative to JP,63-196586,A at JP,61-7279,A and No. 92287 [Showa 60 to]. However, utilization was [in / with the above-mentioned compound / composition, stability, and a water-soluble field] difficult for using as a sensitizer for PDT.

[0005] Moreover, there is also a problem of organization permeability of the laser light used for PDT. The maximum absorption wavelength is 630nm and the molar extinction coefficient of HPD or its dimer is also as low as 3000. With 630nm light, organization permeability will be bad and will be limited to the surface cancer whose curative effect of PDT is 5-10mm.

[0006] On the other hand, there is a problem also in laser equipment. The dye laser present most often used has bad stability, and the handling on employment is difficult for it. Employment will become quite easy if the titanium sapphire laser which attracts attention recently is used. However, if this laser is used, it will be restricted to 670nm or more absorption wavelength of 600nm or less, and it can apply to neither HPD with the absorption wavelength near 630nm, nor its dimer.

[0007] Furthermore, causing photosensitivity temporary as a side effect of drugs is known. For this reason, after medication, a patient must be confined in a dark place for a long period of time so that normal tissues, such as the skin, may not be destroyed in a photosensitization operation. Since the elimination rate from normal tissue is slow, when long, as for HPD and its dimer, photosensitivity may remain six weeks or more. Development of the new drugs which the drugs by which current use is carried out are holding the trouble of such many, and replace HPD and its dimer is desired strongly. Then, the compound which is a single compound as what conquers the fault which the above-mentioned drugs have, and has absorption in a long wavelength field (650-800nm) more is proposed as a drug of the second generation. It inquires as drugs which various compounds, such as ring escape mold porphyrins, such as porphyrins, such as aza-porphyrins, such as a current phthalocyanine, and chlorin bacteriochlorin,

and TEKISAFIRIN, replace with HPD or its dimer.

[0008]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] With the good accumulation nature to stability and a cancer organization maintained, from normal tissue, the elimination rate reduced phototoxicity quickly, and when it could moreover do and having been got, it looked for the porphyrin derivative which can use titanium sapphire laser (670nm or more wavelength of 600nm or less), and this invention persons be single components and repeated various researches for the purpose of offer the photosensitizer suitable for PDT.

[0009]

[Means for Solving the Problem] Consequently, front ***** [JP,2-138280,A, U.S. application No. (1989) 375482, The metalloporphyrin derivative of a certain kind which combined the specific side chain which has a polyfunctional radical in Europe application 89112955.No. (1989) 3], When the specific side chain which has the radical which has an alkoxyl group or various functional groups of a certain kind in the chlorins which carried out synthetic derivatization from the protoporphyrin of a porphyrin derivative and the blood origin, and amino acid residue is combined, and of a single component It found out having ecritic [better than the accumulation nature and normal tissue which were excellent to the cancer organization] about a metalloporphyrin derivative, and having the absorption wavelength of 670nm or more about 600nm or less and a synthetic chlorin-ized derivative moreover, and having the good PDT effectiveness.

[0010] Moreover, this invention persons were in the middle of [this] researches and developments, and when the ultraviolet absorption (UV) spectrum of the mixture of a porphyrin and albumin was analyzed, it found out that there was a principle with the fixed trend of a spectrum as the compatibility to a specific organ, especially cancer.

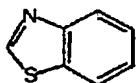
[0011] This invention is completed based on the above-mentioned knowledge, and the summary is a general formula. (I) The porphyrin compounds shown by-izing 1 (alkyl and M are the residue R1 was excluding CH(OR) CH3 among the formula, and excluding [R2] hydrogen from amino acid, and R is 2H, and Ga, Zn, Pd, In and Sn), or those metal complexes.

formation 2 (it CHO(s) the inside of a formula, and R3 — CH=CH [2] and CH(OR) CH3 —) of general formula (II) CH=NOH or CH2OH R4 CH=X, C(OH) OSO2Na, CH (SCH2-COOH)2, CH (OR)2, or ** 5 X O, C (CN)2, N-W, or C(Y) Z W OH, OCOCH3, or NH-E, E H, alkyl, COC5H4N, CONH2, CSNH2 and COOCH3, COCH2NCl (CH3)2, or C(NH2) =NH, The cyclic structure Y indicates H or alkyl, and Z to be by NO2, COF, or

** 6, F is methyl, phenyl, aminophenyl, or the residue of ionone. R2 is the residue excluding hydrogen from OH, aminosugar, or amino acid. R consists in the porphyrin compound shown by alkyl. (However, the functional group of the side chain of B ring also contains among a formula the position isomer which interchanged, respectively among [A] four tetrapyrrole rings.)

[0012]

[Formula 5]



[0013]

[Formula 6]



[0014] The word "alkyl" alkyl [which was used about the semantics of each above-mentioned notation] Becoming means the alkyls (for example, methyl, ethyl, hexyl, octyl, DESHIRU, undecyl, dodecyl, tetradecyl, octadecyl, etc.) of carbon numbers 1-18 preferably 20 or less carbon number. "Amino acid" The becoming word means an essential amino acid.

[0015] The porphyrin compound of this invention can be manufactured by the very thing conventionality. If it is in the porphyrin compound corresponding to a general formula (I), what has R1 is constituted (process a), and the residue of amino acid is made to combine with R2 of the porphyrin compounds which advanced as it is subsequently to the following process c, or introduced the metal into this (process b) and were obtained, and those metal complexes (process c). Moreover, a sequential reaction may not necessarily be carried out with a process (a), (b), and (c), for example, as shown in a process (b), (a), (c) or a process (a) and (c), and (b), the order of a process may replace.

[0016] what has R2 first on the other hand if it is in the porphyrin compound corresponding to a general formula (II) -- constituting (process d) -- subsequently -- this -- R4 -- the compound of versatility [derivative / which derivatized to the compound which has especially an aldehyde group (process e), and was obtained / chlorin] -- addition -- or condensation is carried out -- making (process f) -- and the need -- oh, the residue of ** aminosugar or amino acid is made to combine (process c)

[0017] A configuration process (a, b, d, and e) can perform this by the conventional approach indicated by J.E.Falk work [Porphyrins and Metalloporphyrins] (Elsevier issue, 1975), D.Dolphin work [The Porphyrins] (Academic Press issue, 1978), etc.

[0018] For example, what is the porphyrin compounds which have R1 corresponding to (I), and those metal complexes should just prepare this according to the approach indicated by JP,61-7279,A, JP,61-83185,A, the patent official report No. 13997 [Showa 63 to], JP,2-76881,A, JP,2-138280,A, and Japanese Patent Application No. No. 1684990 [two to]. That is, although it is desirable to prepare Br derivative of (I) beforehand, and to advance a reaction between this and the hydroxyl group of alcohols that what is necessary is just to introduce R into R1 side chain of a porphyrin compound (I) about a process (a), or to make it react using Lewis acid, it is not caught by this. About a process (b), this is usually performed using a metaled chloride, acetate, a sulfate, a nitrate, etc. Ga, Zn, Pd, In, Sn, etc. which have the effectiveness which prolongs a phosphorescence life as a metaled class are raised. Moreover, this metal installation process (b) may not ask the (a) process order, but may prepare it if needed. For example, a metal installation process (b) is performed first, and even if subsequently prepare Br derivative of a metalloporphyrin compound, and it makes it react between this and alcohols or it advances a reaction (process a) with alcohols using Lewis acid, it is satisfactory in any way. Instead of compounding artificially, this may be extracted from a natural resource like vegetation or an animal.

[0019] The porphyrin compound constituted as mentioned above and its metal complex are given to the joint process (c) of the residue of amino acid next. That is, amino acid is made to react to the porphyrin compound whose R2 is a hydroxyl group, or its metal complex (I), and R2 manufactures an amino acid support porphyrin compound or its metal complex (I). By the conventional approach indicated by the Izumi store work [the foundation of peptide synthesis, and an experiment] (the Maruzen issue, 1985) etc., this thing can perform this and should just prepare this according to the approach indicated by JP,64-61481,A, JP,2-76881,A, JP,2-138280,A, and Japanese Patent Application No. No. 168499 [two to]. Instead of compounding artificially, this may be extracted from a natural resource like vegetation or an animal.

[0020] In this case, since what is necessary is just to introduce the residue of amino acid into the side chain of a porphyrin compound in short, it is desirable to advance a reaction between the carboxyl group of R2 side chain of (I) and the amino group of amino acid, for this reason, the former carboxyl group and/or the latter amino group may be changed into a conventional reactant radical, or protecting suitably the functional group it is not desirable to participate in the reaction to which it exists in

both may be taken into consideration. In addition, in any case, use of a reaction accelerator like a dehydrating agent or a deoxidizer or a condensing agent may also be suitably taken into consideration.

[0021] Hereafter, the example of representation is given and preparation of porphyrin compounds and those metal complexes (I) is explained still more concretely. For example, it is amino acid to the porphyrin compound in which R₂ had a hydroxyl group, and its complex (JP,61-7279,A, No. 83185 [Showa 61 to], the patent official report No. 13997 [Showa 63 to], JP,2-76881,A, JP,2-138280,A, or Japanese Patent Application No. No. 168499 [two to]). Methyl ester etc. is made to react using a condensing agent (for example, [dicyclohexylcarbodiimide (DCC) and a water-soluble carbodiimide (WSC)]) etc. in a solvent, and the porphyrin compounds which the amino compound combined with the side chain of R₂, or those metal complexes (I) are obtained. The following can be mentioned as the example.

- [0022] (1) 2, 4-screw (1-propoxy ethyl)-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C3-DP-diAsp)
- (2) 2, 4-screw (1-butoxy ethyl)-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C4-DP-diAsp)
- (3) 2, a 4-screw (1-pentyloxy ethyl)-due TEROPORUFINIRUJI aspartic acid (henceforth C5-DP-diAsp)
- (4) 2, a 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-due TEROPORUFINIRUJI aspartic acid (henceforth C6-DP-diAsp)
- (5) 2, a 4-screw (1-octyloxy ethyl)-due TEROPORUFINIRUJI aspartic acid (henceforth C8-DP-diAsp)
- (6) 2, a 4-screw (1-decyloxy ethyl)-due TEROPORUFINIRUJI aspartic acid (henceforth C10-DP-diAsp)
- (7) 2, a 4-screw (1-butoxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRUJI aspartic acid (henceforth C4-Ga-DP-diAsp)
- (8) 2, 4-screw (1-pentyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JISERIN (henceforth C5-Ga-DP-diSer)
- (9) 2, 4-screw (1-pentyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C5-Ga-DP-diAsp)
- (10) 2, 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C6-Ga-DP-diAsp)
- (11) 2, 4-screw (1-heptyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C7-Ga-DP-diAsp)
- (12) 2, 4-screw (1-octyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU Diglycine (henceforth

C8-Ga-DP-diGly)

(13) 2, 4-screw (1-octyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JISERIN (henceforth C8-Ga-DP-diSer)

(14) 2, 4-screw (1-octyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C8-Ga-DP-diAsp)

(15) 2, 4-screw (1-octyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU Jig Lutamin acid (henceforth C8-Ga-DP-diGlu)

(16) 2, 4-screw (1-octyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JICHIROSHIN (henceforth C8-Ga-DP-diTyr)

(17) 2, 4-screw (1-nonyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C9-Ga-DP-diAsp)

(18) 2, 4-screw (1-decyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C10-Ga-DP-diAsp)

(19) 2, 4-screw (1-dodecyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C12-Ga-DP-diAsp)

(20) 2, 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-Zn-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C6-Zn-DP-diAsp)

(21) 2, 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-Pd-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C6-Pd-DP-diAsp)

(22) 2, 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-In-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C6-In-DP-diAsp)

(23) 2, 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-Sn-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C6-Sn-DP-diAsp)

(24) 2, 4-screw (1-decyloxy ethyl)-Zn-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C10-Zn-DP-diAsp)

(25) 2, 4-screw (1-decyloxy ethyl)-Pd-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C10-Pd-DP-diAsp)

(26) 2, 4-screw (1-decyloxy ethyl)-In-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C10-In-DP-diAsp)

(27) 2, 4-screw (1-decyloxy ethyl)-Sn-due TEROPORUFINIRU JIASUPARAGIN acid (henceforth C10-Sn-DP-diAsp)

[0023] On the other hand, what is the porphyrin compound which has R of R3 corresponding to (II) should just prepare this according to the approach indicated by the above-mentioned a process. moreover, about a compound given in below the aldehyde group of R3 Protoporphyrin Photochemical reaction processing of the dimethyl ester (henceforth PP-Me) is carried out, and it is 1-hydroxy-2-formyl

ethylidene-protoporphyrin. Dimethyl ester (henceforth photograph protoporphyrin dimethyl ester) is prepared (process e). Subsequently, 2-formyl-4-vinyl-DEYUTERO porphyrin dimethyl ester (henceforth SUPIROGURAFISU porphyrin dimethyl ester) takes after returning this with oxidizing agents, such as periodic acid, (process d). (However, the functional group of the side chain of B ring also includes the 4-formyl-2-vinyl object which interchanged, respectively among [A] four tetrapyrrole rings.) It is desirable to use a photochemical reaction about (e) a chlorin chemically-modified degree, and the chlorin compound (photograph protoporphyrin) with which R4 has an aldehyde group is obtained. Instead of compounding artificially, this may be extracted from a natural resource like vegetation or an animal.

[0024] Next, the chlorin compound constituted as mentioned above is given to addition and/or a condensation process (f). That is, R4 makes a sodium hydrogensulfite, mercaptal, alcohol, etc. react to the porphyrin compound (II) which is an aldehyde group, makes an adduct porphyrin compound a hydroxylamine, a hydrazine, a malonic-acid derivative, etc. react again, and manufactures a condensation product porphyrin compound. This thing can perform this by the conventional approach indicated by the general organic chemistry experiment in the letter ([addition or the condensation reaction] of alcohol, a hydroxylamine, a hydrazone, a semicarbazone, an amino thiophenol, malonic ester, etc. and an aldehyde compound). In addition, in any case, use of a reaction accelerator like a dehydrating agent or a deoxidizer or a condensing agent may also be suitably taken into consideration.

[0025] Hereafter, the example of representation is given and preparation of a porphyrin compound (II) is explained still more concretely. For example, a sodium hydrogensulfite etc. is made to react to the chlorin compound (photograph protoporphyrin derivative) in which R4 had an aldehyde group in a solvent, and the porphyrin compound (II) which the sodium hydrogensulfite added is obtained. On the other hand, a compound with the amino group and compounds (for example, chestnut nitril, barbituric acid, an acetone, an acetophenone, an amino acetophenone, ionone, etc.) with active hydrogen radicals (for example, a hydroxylamine, a hydrazine derivative, a semicarbazide, an amino thiophenol, etc.) are made to react to a photograph protoporphyrin derivative using condensing agents (for example, a pyridine, a piperidine, an acid, alkali, etc.) in a solvent, and the porphyrin compound (II) which these compounds condensed in the side chain of R4 is obtained. The following can be mentioned as the example.

[0026] (28) 2 - Vinyl-3-hydroxy-4-formyl ethylidene-protoporphyrin Dimethyl ester

(photograph protoporphyrin dimethyl ester) sodium-hydrogensulfite addition product (henceforth NaHSO₃-P-Me)

(29) Photograph protoporphyrin Dimethyl ester Acetic-acid mercaptal (henceforth HOAcS-P-Me)

(30) Photograph protoporphyrin Diethyl acetal (henceforth EtO-P)

(31) 2-(1-hexyloxy ethyl)-3-hydroxy-4-formyl ethylidene-protoporphyrin (C6-photograph protoporphyrin) (henceforth C6-P)

(32) C6-photograph protoporphyrin JIASUPARAGIN acid (henceforth C6-P-diAsp)

(33) 2-(1-decyloxy ethyl)-3-hydroxy-4-formyl ethylidene-protoporphyrin (C10-photograph protoporphyrin) (henceforth C10-P)

(34) C10-photograph protoporphyrin JIASUPARAGIN acid (henceforth C10-P-diAsp)

(35) Photograph protoporphyrin Oxime (henceforth NOH-P)

(36) 2 - Formyl-3-hydroxy-4-formyl ethylidene-protoporphyrin (SUPIROGURAFISU photograph protoporphyrin) (it is called Following SP)

(37) Photograph protoporphyrin Chlorination trimethyl aceto hydrazone (henceforth G'THZ-P)

(38) Photograph protoporphyrin hydronalium OKISAMU acid ((39) SUPIROGURAFISU photograph protoporphyrin dioxime (henceforth 2 NOH-SP) called N2 OH-P below)

(40) Photograph protoporphyrin Acetic-acid oxime (henceforth NOAc-P)

(41) Photograph protoporphyrin t-butyl hydrazone (henceforth tBuHZ-P)

(42) Photograph protoporphyrin Guanylhyazone (henceforth GHZ-P)

(43) Photograph protoporphyrin Nicotinic-acid hydrazone (henceforth NHZ-P)

(44) Photograph protoporphyrin Nicotinic-acid hydrazone JIASUPARAGIN acid (henceforth NHZ-P-diAsp)

(45) Photograph protoporphyrin Carbonic acid hydrazone (henceforth CHZ-P)

(46) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Barbituric acid (henceforth BA-P)

(47) Photograph protoporphyrin Semicarbazone (henceforth NH₂ CONHN-P)

(48) Photograph protoporphyrin Thio semicarbazone (henceforth NH₂ CSNHN-P)

(49) Photograph protoporphyrin Benzothiazole (henceforth BT-P)

(50) Photograph protoporphyrin Chestnut nitril (henceforth MCN-P)

(51) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Nitro methylene (henceforth NO₂-P)

(52) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Nitro ethylene (henceforth MeNO₂-P)

(53) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Nitro propylene (henceforth EtNO₂-P)

(54) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Acetone (henceforth Me₂ CO-P)

(55) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Acetone JIASUPARAGIN acid (henceforth Me₂ CO-P-diAsp)

(56) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Ionone JIASUPARAGIN acid (henceforth Io-P-diAsp)

(57) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Ionone oxime JIASUPARAGIN acid (henceforth NOH-Io-P-diAsp)

(58) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Acetophenone (henceforth PhCO-P)

(59) Photograph pro TOPORUFIRIDEN Amino acetophenone (henceforth NH₂ PhCO-P)

(60) Photograph PUROTOPORUFIRI nil oxime Amino glucose (henceforth NOH-P-NHglu)

[0027] What is necessary is just to perform manufacture of the drugs pharmaceutical preparation of the porphyrin derivative by this invention by the the very thing well-known method, and to dissolve the derivative by this invention with the suitable buffer solution. The solubilizing agent (for example, organic solvent) which uses as a suitable additive, for example, can be admitted in physic, pH modifier (for example, an acid, a base, the buffer solution), a stabilizer (for example, ascorbic acid), an excipient (for example, glucose), an isotonicizing agent (for example, sodium chloride), etc. may be blended.

[0028] the drugs by this invention — the need as drugs for PDT — the compatibility over albumin, sufficient property, i.e., long phosphorescence life, a specific organ especially the specific accumulation nature to cancer, the optical killer cell effectiveness, absorption wavelength, water solubility, purity, etc. are satisfied enough. The good water solubility of the drugs by this invention enables manufacture of a high concentration solution (50mg/(ml)), and the drugs by this invention show high stability further not only in the inside of a test tube but in the living body. Generally, in order to apply as drugs for PDT, it is desirable to prescribe the drugs of this invention for the patient in the amount of 1mg – 5 mg/kg weight.

[0029]

[Function] The porphyrin compound concerning this invention has the description on the chemical structure at the point of having a metal complex in the side chain of a porphyrin frame in alkoxy residue and amino acid residue or aldehyde residue and its adduct and condensation product, or a porphyrin frame, and, as a result, demonstrates various physiological or pharmacological profiles.

[0030] A cancer cell is piled up alternatively and these porphyrins derivative has the slow elimination from a cancer cell. In addition, from a normal organ or a cell, since it is excreted promptly, damage is not done to them. Originally, although the thing of ***** of a porphyrin derivative had the strong operation to light, while it raised

excretory [from normal tissue] by introducing polyfunctional compound residue into the side chain of a porphyrin derivative according to this invention, the derivative of it designed so that a phototoxic manifestation might be controlled as much as possible became possible. Moreover, when chlorin derivatization of the porphyrin was carried out and wavelength carried out a red shift, the degrees of ** of a curative effect were able to be measured. The porphyrin derivative of this invention is useful as PDT drugs [as opposed to an organ especially specific cancer, or a specific malignant tumor based on these properties (cancer compatibility, the optical killer cell effectiveness, absorption wavelength, water solubility)].

[0031]

[Example]

Example It compounded by the approach hung up over synthetic JP,2-138280,A of 1 porphyrin compound (I), and Japanese Patent Application No. No. 168499 [two to]. It is protoporphyrin as a start raw material. Using dimethyl ester (henceforth PP-Me) 5g, 10% hydrobromic acid / 30ml of acetic acids were added to this, and it agitated one whole day and night. Then, vacuum concentration of the reaction solution was carried out, 18ml (for example, hexyl alcohol C₆H₁₃OH) of alcohols was added to residue, and the churning reaction was carried out under the room temperature one whole day and night. (Installation of the alcohol residue to a porphyrin derivative) Residue was hydrolyzed after the reaction by adding 2-N potassium hydroxide / 60ml of ethanol solutions. (Saponification of ester)

Liquids were separated under chloroform after neutralization with 1-N hydrochloric acid, and vacuum concentration of the chloroform layer was carried out. The silica gel column chromatography (eluate; n-hexane-ethyl-acetate stepwise technique) refined the concentrate, and 2 and 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-due TEROPORUFIRIN was obtained. (3.3g)

The obtained alkoxy object whole quantity was made into the DCHA salt by dicyclohexylamine (DCHA) with the conventional method. Chloroform 30ml and acetonitrile 15ml were added, and this DCHA salt whole quantity was dissolved. Subsequently, aspartic acid 3g of dimethyl ester [Asp (OMe)₂] hydrochlorides was added, and you added WSC1.8g gradually to the bottom of churning, and made it react for 2 hours. Vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing and liquid separation was carried out for reaction mixture after the reaction. The obtained concentrate is recrystallized in a methanol-ethyl-acetate-n-hexane and it is a 2 and 4-screw (1-hexyloxy ethyl)-due TEROPORUFINIRUJI aspartic acid. Tetramethyl ester was obtained. With the conventional method, the obtained amide object whole

quantity was hydrolyzed with 2-N potassium hydroxide / ethanol solution, and the rough crystal of the specified substance was obtained. Subsequently, octyl silica gel (C8) medium-voltage high-speed preparative isolation liquid chromatography [eluate; methanol-water (9:1)] refines this rough crystal, and it is 2,4-screw (1-hexyloxy ethyl)-due TEROPORUFINIRU. The JIASUPARAGIN acid [C6-DP-diAsp (4)] was obtained. (3.43g, 40.6% of total yield)

[0032] Example The approach hung up over synthetic JP,2-138280,A of 2 metalloporphyrin compounds (I) and Japanese Patent Application No. No. 168499 [two to] was improved and compounded. Using PP-Me30g as a start raw material, after the formation of a gallium complex, 10% hydrobromic acid / 300ml of acetic acids were added to this, and it agitated one whole day and night. Then, vacuum concentration of the reaction solution was carried out, methanol 200ml was added to residue and the churning reaction was carried out under the room temperature one whole day and night. (Installation of the methoxy group to a porphyrin derivative) Added water, purplish red color precipitate was made to generate, and it separated. (30g)

sediment -- 150ml (for example, decyl alcohol C₁₀H₂₃OH) of alcohols -- in addition, warming under a Lewis acid (for example, stannic chloride) catalyst -- the churning reaction was carried out. (Exchange reaction of the alcohol residue to a methoxy porphyrin derivative)

Extract vacuum concentration of the reaction mixture was carried out after the reaction, and residue was hydrolyzed by adding 2-N potassium hydroxide / 60ml of ethanol solutions. (Saponification of ester)

When it put in the refrigerator after neutralization with 1-N hydrochloric acid one whole day and night, precipitate of a purplish red color generated. Precipitate was separated, the silica gel column chromatography (eluate; n-hexane-ethyl-acetate stepwise technique) refined, and the gallium complex of 2 and 4-screw (1-decyloxy ethyl)-due TEROPORUFIRIN was obtained. (14.4g)

Actuation of amidation, hydrolysis, and purification was performed for the obtained complex whole quantity like the example 1, and the 2 and 4-screw (1-decyloxy ethyl)-Ga-due TEROPORUFINIRUJI aspartic acid [C₁₀-Ga-DP-diAsp (18)] was obtained. (15.7g, 25.5% of total yield)

[0033] example synthetic R.K of 3-phot protoporphyrin -- it compounded according to Dinello's and others approach [The Porphyrins, Academic Press issue, and Vol.1.303 (1978)]. PP-Me100g was dissolved in chloroform 10l., and it was made to react for one week under an optical exposure. (From a porphyrin to chlorin

derivatization) After [a reaction] vacuum concentration was carried out and residue was obtained. A silica gel column chromatography (eluate: n-hexane-chloroform) refines the obtained residue, and it is 1(3)-hydroxy-2(4)-formyl ethylidene-protoporphyrin. Dimethyl ester (it is called photograph protoporphyrin dimethyl ester and following P-Me) was obtained. (50.0g) Then, this was hydrolyzed in pyridine methanol mixture and the photograph protoporphyrin (it is called Following P) of a dark green crystal was obtained. (43.0g, 47.4% of total yield)

[0034] Example P-Me300mg obtained in the four examples 3 is dissolved in pyridine 150ml, 30ml of 30% sodium-hydrogensulfite water solutions was added gradually, and they were made to react to the bottom of churning for 3 hours. The citric-acid solution extracted reaction mixture after neutralization and under chloroform 20%, and it carried out after [rinsing] vacuum concentration. The obtained concentrate was crystallized by the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and NaHSO₃-P-Me (28) was obtained. (50mg, 14.3%)

[0035] Example Except using 3% of it instead of 510% hydrobromic acid / acetic acid, it processed like the example 1 and 4g of 2-(1-decyloxy ethyl)-4-vinyl-due TEROPORUFIRIN from decyl alcohol was obtained for 2-(1-hexyloxy ethyl)-4-vinyl-due TEROPORUFIRIN from hexyl alcohol as a synthetic intermediate product, respectively. Like the example 3, the optical light reaction was performed, after treatment of the obtained mono-alkoxy object whole quantity was carried out, and C6-P (31) and C10-P (33) were obtained. (0.88g, 21.0% and 1.1g, 6.5%) Operated these photooxidation reactant [31 (0.8g), 33 (1.0g)] separately like the example 1, respectively, it amidated and processed [hydrolysis], and C6-P-diAsp (32) and C10-P-diAsp (34) were obtained separately. (450mg, 42.3% and 160mg, 12.3%)

[0036] Example P300mg obtained in the six examples 3 is dissolved in pyridine 100ml, and you added the hydroxylamine-hydrochloride solution 30%, and made it react to the bottom of room temperature churning for 30 minutes. Chloroform was added to reaction mixture after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and NOH-P (35) was obtained. (250mg, 81.3%)

[0037] Example You dissolved 7 P-Melg in chloroform 300ml, and made it react for 30 minutes after dropping 20ml of methanol solutions of sodium borohydride 5% at the bottom of room temperature churning. The citric-acid water solution was added to reaction mixture 10% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was

dissolved in dioxane 100ml, 10ml of sodium periodate water solutions and 40ml of 3% hydrochloric acids were added 10%, and it was left at the room temperature for 18 hours. The purple crystal recrystallized in the reaction solution was separated, and it dissolved in chloroform 120ml after rinsing desiccation, and was made to react under an optical exposure for 48 hours. After [a reaction] vacuum concentration was carried out and residue was obtained. A silica gel chromatography (eluate; chloroform-acetone) refines the obtained residue, and he is SP. Dimethyl ester 150mg was obtained. Obtained SP dimethyl ester whole quantity was dissolved in pyridine 30ml, and 5ml of sodium-hydroxide water solutions was added 10%, it hydrolyzed, the chloroform after neutralization was added in the citric-acid water solution 20%, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the ethyl-acetate-n-hexane and SP (36) was obtained. (120mg, 12.5%)

[0038] Example 8P200mg was dissolved in methanol 40ml, and you added Gerard reagent T400mg to the bottom of room temperature churning, and made it react for 1 hour. A citric-acid water solution and chloroform were added to reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and G'THZ-P (37) was obtained. (200mg, 79.9%)

[0039] Example 9P300mg was dissolved in the methanol, and you added 300mg of benzene sulfo hydronalium KISAMIN acids, and 4ml of 1-N sodium hydroxides to the bottom of room temperature churning, and made it react for 18 hours. A citric-acid water solution and chloroform were added to reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and N2 OH-P (38) was obtained. (60mg, 19.0%)

[0040] Example SP obtained as an intermediate product of ten examples 7 Dimethyl ester 500mg is dissolved in pyridine 100ml, and you added 10ml of hydroxylamine-hydrochloride water solutions 30%, and made it react to the bottom of room temperature churning for 30 minutes. A citric-acid water solution and chloroform were added to reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate is reprecipitated in an ethyl-acetate-n-hexane and it is NOH-SP. Dimethyl ester 450mg was obtained. Obtained NOH-SP Dimethyl ester was hydrolyzed with the conventional method. Liquids were separated under chloroform after neutralization with 1-N hydrochloric acid, and vacuum concentration of the

chloroform layer was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and 2 NOH-SP (39) was obtained. (180mg, 35.9%)

[0041] Example NOH-P100mg obtained in the 11 examples 6 is dissolved in pyridine 20ml, 1ml of acetic anhydrides was added and they were made to react to the bottom of room temperature churning for 6 hours. Chloroform was added to reaction mixture after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the ethyl-acetate-n-hexane and NOAc-P (40) was obtained. (60mg, 19.0%)

[0042] Example 12P200mg is dissolved in pyridine 50ml, t-butyl hydrazine 400mg and 4ml of 10% aminoguanidine hydrochloride water solutions were added separately, respectively, and they were made to react to the bottom of room temperature churning for 18 hours. Chloroform was added to each reaction mixture after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. Each obtained concentrate was reprecipitated in the ethyl-acetate-n-hexane and tBuHZ-P (41) and GHZ-P (42) were obtained. (80mg, 35.7% and 190mg, 87.2%)

[0043] example 13P200mg — pyridine 20ml — dissolving — nicotinic-acid hydrazide 730mg and cull BAJIN acid methyl ester — respectively — separate — adding — 50 degrees C — warming — you made it react under churning for 3 hours A citric-acid water solution and chloroform were added to each reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. Each obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and NHZ-P (43) and CHZ-P (45) were obtained. (33mg, 13.8% and 130mg, 58.0%)

[0044] Example NHZ-P930mg obtained in the 14 examples 13 was made into the DCHA salt with the conventional method. Chloroform 50ml and acetonitrile 25ml were added, and this DCHA salt whole quantity was dissolved. Subsequently, aspartic acid 930mg of dimethyl ester hydrochlorides is added, and WSC1.5g was added gradually and made to react to the bottom of churning. Vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out for reaction mixture after the reaction. The obtained concentrate was dissolved in the pyridine and it hydrolyzed in the sodium-hydroxide water solution 10% with the conventional method. The chloroform after neutralization was added in the citric-acid water solution 20%, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and NHZ-P-diAsp (44) was obtained. (870mg,

71.0%)

[0045] Example 15P150mg was dissolved in pyridine 20ml, and you added separately 150mg [of barbituric acid], and chestnut nitril 20ml to the bottom of room temperature churning, respectively, and made it react for 30 minutes. A citric-acid water solution and chloroform were added to each reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. Each obtained concentrate was reprecipitated in the ethyl-acetate-n-hexane and BA-P (46) and MCN-P (50) were obtained. (20mg, 11.2% and 50mg, 30.9%)

[0046] Example 16P200mg was dissolved in pyridine 20ml, and you added separately 200mg [of semicarbazide hydrochlorides], and hydrochloric-acid thiosemicarbazide 400mg to the bottom of room temperature churning, respectively, and made it react for 50 minutes. A citric-acid water solution and chloroform were added to each reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. Each obtained concentrate was reprecipitated in the pyridine-chloroform-ethyl-acetate-n-hexane and NH₂ CONHN-P (47) and NH₂ CSNHN-P (48) were obtained. (160mg, 73.0% and 70mg, 31.2%)

[0047] example 17P300mg — pyridine 50ml — dissolving — o-aminobenzene thiol 10ml — adding — 60 degrees C — warming — you made it react under churning for 18 hours A citric-acid water solution and chloroform were added to reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the ethyl-acetate-n-hexane and BT-P (49) was obtained. (350mg, 98.9%)

[0048] Example 18P100mg is dissolved in viridin 8ml, and it adds nitromethane, nitroethane, and 8ml of nitropropane at a time separately to the bottom of room temperature churning, respectively, and 600mg added at a time and sodium ethylate was made to react for 70 minutes for 85 minutes further for 24 hours, respectively. A citric-acid water solution and chloroform were added to each reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. Each obtained concentrate was reprecipitated in the chloroform-ethyl-acetate-n-hexane and NO₂-P(51) MeNO₂-P (52) and EtNO₂-P (53) were obtained. (60mg, 56.0%, 40mg, 36.5% and 70mg, 62.5%)

[0049] Example It dissolved in mixture (19 P-Me3g acetone 1.1l. and methanol 300ml), and 365ml of sodium-hydroxide water solutions was added 10% to the bottom of room temperature churning. Next, after the citric-acid water solution neutralized 20%,

chloroform was added, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the chloroform-ethyl-acetate-n-hexane and Me₂ CO-P (54) was obtained. (2.6g, 85.0%)

[0050] Example Me₂ CO-P2.6g obtained in the 20 examples 19 was made into the DCHA salt with the conventional method. Chloroform 50ml and acetonitrile 25ml were added, and this DCHA salt whole quantity was dissolved. Subsequently, aspartic acid 305g of dimethyl ester hydrochlorides is added, and WSC3.0g was added gradually and made to react to the bottom of churning. Vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out for reaction mixture after the reaction. The obtained concentrate was dissolved in the pyridine and it hydrolyzed in the sodium-hydroxide water solution 10% with the conventional method. The chloroform after neutralization was added in the citric-acid water solution 20%, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and Me₂ CO-P-diAsp (55) was obtained. (870mg, 24.6%)

[0051] Example 21 P-Me100mg is dissolved in pyridine 8ml, beta-ionone 8ml is added to the bottom of room temperature churning, 6ml of 10 more% sodium-hydroxide water solutions was added, and they were made to react for 20 minutes. A citric-acid water solution and chloroform were added to reaction mixture 20% after the reaction, and the chloroform layer after rinsing liquid separation was condensed. A silica gel chromatography (eluate; n-hexane-ethyl acetate) refines the obtained residue, and it is Io-P. Dimethyl ester 80mg was obtained. Obtained Io-P Dimethyl ester was dissolved in the pyridine and it hydrolyzed in the sodium-hydroxide water solution 10% with the conventional method. The chloroform after neutralization was added in the citric-acid water solution 20%, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and Io-P70mg was obtained. Obtained Io-P was made into the DCHA salt with the conventional method. Chloroform 10ml and acetonitrile 5ml were added, and this DCHA salt whole quantity was dissolved. Subsequently, aspartic acid 70mg of dimethyl ester hydrochlorides is added, and WSC50mg was added gradually and made to react to the bottom of churning. Vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out for reaction mixture after the reaction. The obtained concentrate was dissolved in the pyridine and it hydrolyzed in the sodium-hydroxide water solution 10% with the conventional method. The chloroform after neutralization was added in the citric-acid

water solution 20%, and the chloroform layer after rinsing liquid separation was condensed. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and Io-P-diAsp (56) was obtained. (56mg, 35.0%)

[0052] example Io-P180mg obtained as an intermediate product of 22 examples 21 — pyridine 60ml — dissolving — 50 degrees C — warming — 1.2g of bottom hydroxylamine hydrochlorides of churning was added, and they were made to react for 40 minutes A citric-acid water solution and chloroform were added to reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The silica gel chromatography (eluate; ethyl-acetate-methanol) refined the obtained residue, and NOH-Io-P110mg was obtained. Obtained NOH-Io-P was made into the DCHA salt with the conventional method. Chloroform 20ml and acetonitrile 10ml are added, this DCHA salt whole quantity is dissolved, and, subsequently it is an aspartic acid. 110mg of dimethyl ester hydrochlorides is added, and WSCI10mg was added gradually and made to react to the bottom of churning. Vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out for reaction mixture after the reaction. The obtained concentrate was dissolved in ethanol and it hydrolyzed in 2-N potassium-hydroxide water solution with the conventional method. The chloroform after neutralization was added in the citric-acid water solution 20%, and the chloroform layer after rinsing liquid separation was condensed. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-ethyl-acetate-n-hexane and NOH-Io-P-diAsp (57) was obtained. (80mg, 33.8%)

[0053] Example 23 P-Me300mg was dissolved in pyridine 50ml, and acetophenone 5ml and p-amino acetophenone were separately added to the bottom of room temperature churning, respectively. It added 6ml of 10% sodium-hydroxide water solutions at a time to each, and they were made to react to it for 3 hours. After the reaction, 15ml of sodium-hydroxide water solutions was added to each reaction mixture 10%, the citric-acid water solution performed the chloroform extraction after neutralization 20%, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. Each obtained concentrate was reprecipitated in the ethyl-acetate-n-hexane and PhCO-P (58) and NH₂ PhCO-P (59) were obtained. (220mg, 65.4% and 180mg, 52.6%)

[0054] Example The liquid which dissolved 24 NOH-P150mg in tetrahydrofuran 5ml, and dissolved DCHA90mg in diethylether 1.5ml was added, and it considered as the DCHA salt with the conventional method. this DCHA salt whole quantity — dimethylformamide 18ml — dissolving — 4ml of 10% hydrochloric-acid D-glucosamine

water solutions — adding — 50 degrees C — warming — 6ml of chloroform solutions of 2.5%DCC was added gradually, and they were made to react to the bottom of churning for 2.5 hours A citric-acid water solution and chloroform were added to reaction mixture 20% after the reaction, and vacuum concentration of the chloroform layer after rinsing liquid separation was carried out. The obtained concentrate was reprecipitated in the methanol-chloroform-ethyl-acetate-n-hexane and NOH-P-NHglu (60) was obtained. (40mg, 20.6%)

[0055] Example The mass of this derivative was measured according to 25 mass-analysis FAB mass spectrometry. The main things of the measurement result are shown in Table 1. As the example of representation, the FAB mass analysis spectrum of C₆-Pd-DP-diAsp (21) and NOH-P(35) dimethyl ester is shown in drawing 1 and drawing 2.

[0056]

[Table 1]

化合物	分子式	分子量	MH ⁺	M ⁺	MH- 2H ₂ O ⁺
(4) C ₆ -DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₂	997.20	997		/
(10) C ₆ -Ga-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₄ Ga	1099.93			1064
(18) C ₁₀ -Ga-DP-diAsp	C ₆₂ H ₈₉ N ₆ O ₁₄ Ga	1212.15			1175
(20) C ₆ -Zn-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₀ N ₆ O ₁₂ Zn	1060.57		1058	/
(21) C ₆ -Pd-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₀ N ₆ O ₁₂ Pd	1100.41		1100	/
(22) C ₆ -In-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₄ In	1145.03			1109
(23) C ₆ -Sn-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₄ Sn	1147.90		1147	/
(32) C ₆ -P-diAsp (OMe)	C ₅₂ H ₆₆ N ₆ O ₁₃	982.47	983	982	/
(34) C ₁₀ -P-diAsp (OMe)	C ₅₆ H ₇₄ N ₆ O ₁₃	1038.53	1039	1038	/
(35) NOH-P-Me	C ₃₅ H ₂₉ N ₅ O ₅	637.74	638	637	/
(36) SP-Me	C ₃₅ H ₂₉ N ₄ O ₇	624.69	625	624	/
(55) Me ₂ CO-P-diAsp	C ₄₅ H ₄₈ N ₆ O ₁₂	864.91	865	864	/
(56) I ₀ -P-diAsp (OMe)	C ₅₀ H ₇₀ N ₆ O ₁₂	1055.24	1055		/

[0057] example 26 nuclear-magnetic-resonance-analysis nuclear magnetic resonance (1 H-NMR) — this derivative was measured by law. As the example of representation, 1 H-NMR spectrum of C6-DP-diAsp (4) and C10-In-DP-diAsp (26) is shown in drawing 3 and drawing 4 .

[0058] Example 27 ultraviolet-absorption analysis of a spectrum (albumin test)

It is known that a porphyrin compound will form a monomer or a dimer in an albumin solution. This property can be understood by migration of an absorption maximum value or fluctuation of an absorbancy index being seen by analyzing by changing various albumin concentration. Therefore, it is an easy screening test for examining compatibility with a cancer cell. Albumin 54mg is dissolved in a 3ml physiological saline, and it considers as concentration 1.8%. Subsequently, the liquid which diluted this 10 times and was made into 0.18% was diluted with the common ratio 3, and the liquid of each albumin concentration (1.8, 0.18, 0.06, 0.02, 0.0066, 0.0022%) was prepared. On the other hand, 1mg of porphyrin derivatives was dissolved in 1ml (pH8.0) of phosphate buffer solutions, and it was made 100ml with the physiological saline. And 2ml of albumin diluents and 2ml of porphyrin solutions were mixed, albumin concentration of mixture was made into 0.9, 0.09, 0.03, 0.01, 0.0033, and 0.0011%, and ultraviolet absorption spectrum measurement (350–900nm) was performed. Moreover, it measured similarly in the physiological saline and the methanol solution instead of the albumin diluent. These measurement results are shown in Table 2. As the example of representation, the ultraviolet absorption spectrum of C10-Ga-DP-diAsp (18) is shown in drawing 5 and drawing 6 .

[0059]

[Table 2]

化 合 物 名	波 長 (nm)		
	生理 食塩水	メタノー ル	0.9 %ア ルブミン
(4) C ₆ -DP-diAsp	396	397	400
(18) C ₁₀ -Ga-DP-diAsp	401	401	408
(28) NaHSO ₃ -P-Me	672	663	668
(35) NOH-P	666	667	671
(37) G' THZ-P	698	670	674
(38) N ₂ OH-P	658	660	662
(39) 2NOH-SP	675	673	676
(40) NOAc-P	668	666	671
(41) 'BuHZ-P	657	661	663
(42) GHZ-P	691	671	691
(43) NHZ-P	675	671	675
(45) CHZ-P	669	670	673
(46) BA-P	787	721	786
(47) NH ₂ CONHN-P	691	671	675
(48) NH ₂ CSNHN-P	694	672	676
(49) BT-P	682	671	683
(50) MCN-P	729	698	723
(51) NO ₂ -P	668	667	672
(52) MeNO ₂ -P	668	666	671
(53) EtNO ₂ -P	670	668	672
(60) NOH-P-NHglu	—	669	—

[0060] Example Judgment of the optical killer cell effectiveness by 28 light exposure (in vitro)

It examined by the approach hung up over JP,2-138280,A. 1x10⁴ HGC-27 cells (1ml)

were put into the Petri dish (3.5cm), and were cultivated for two days. Each drugs were prepared to various concentration, in addition to the previous Petri dish, it cultivated for 30 minutes, and the phosphate buffer solution washed. After 2 – 3-minute neglect cold spot The optical exposure was carried out for PCL-SX (halogen lamp 150W) 5 minutes (5.8 mw/cm²). In addition, the optical exposure was performed by cutting the wavelength of 600nm or less. Then, it cultivated for 48 hours and the number of survival cells was measured. On the other hand, the group which intercepted light with aluminum foil during the optical exposure as contrast was prepared. It asked for optical cytotoxicity **** by ID50 (rate of 50% cell proliferation inhibition). The graph of the rate of cell proliferation inhibition by C10-Zn-DP-diAsp (24) is shown in drawing 7 at C6-DP-diAsp (4) and drawing 8 .

[0061] Example respectively 90ml (pH8.0) of phosphate buffer solutions was added, 29C6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and preparation Cof NOH-P (35) parenteral solution6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and NOH-P(35) 5g were dissolved separately, subsequently 10ml of 0.1-N sodium hydroxides was added for pH adjustment, and the whole quantity was set to 100ml (50mg [ml] /, pH7.3), respectively. Subsequently, 5ml was poured distributively to each sterile vial, performing sterile filtration, and it considered as the drugs for PDT. Furthermore, cryopreservation of the time of use was carried out after distributive pouring if needed.

[0062] Example The optimum dose of the C6-DP-diAsp (4) parenteral solution obtained in the purity example 29 in TLC and HPLC of a 30C6-DP-diAsp (4) parenteral solution was developed using methanol-water mixture (9:1) on the octyl silica gel (C8) laminated plate (RP-8, Merck Co. make). As a result, the spot was accepted only in the R_f0.5 neighborhood. Furthermore, when HPLC analysis [8 4.0x150mm of column; WAKOSHIRU 5C, an eluate; methanol:water:acetic acid (80:15:5), rate-of-flow;1.0 ml/min, detection wavelength:395nm] was performed, one peak was accepted in Rt 6.3 minutes, and purity was 90% or more.

[0063] Example The optimum dose of the C10-Ga-DP-diAsp (18) parenteral solution obtained in the purity example 29 in TLC and HPLC of a 31C10-Ga-DP-diAsp (18) parenteral solution was developed using methanol-water mixture (95:5) on the octyl silica gel (C8) laminated plate (RP-8, Merck Co. make). As a result, the spot was accepted only in the R_f0.5 neighborhood. Furthermore, when HPLC analysis [8 4.0x150mm of column; WAKOSHIRU 5C, an eluate; methanol:water:acetic acid (85:10:5), rate-of-flow;1.0 ml/min, detection wavelength;405nm] was performed, one peak was accepted in Rt 5.9 minutes, and purity was 95.0% or more.

[0064] Example The optimum dose of the NOH-P (35) parenteral solution obtained in the purity example 29 in TLC and HPLC of 32 NOH-P (35) parenteral solution was developed using methanol-water mixture (4:1) on the octadecyl silica gel (C18) laminated plate (RP-18, Merck Co. make). As a result, the spot was accepted only in the R_f 0.5 neighborhood. Furthermore, when HPLC analysis [18 4.0x250mm of column; WAKOSHIRU 5C, an eluate; methanol:water:acetic acid (80:15:5), rate-of-flow;0.5 ml/min, detection wavelength;405nm] was performed, one peak was accepted in R_t 7.8 minutes, and purity was 96.0% or more.

[0065] Example 33C6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and in of a NOH-P (35) parenteral solution It is in of these drugs by TLC-analyzing and HPLC analyzing the purity of the stability C6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and the NOH-P (35) parenteral solution in the inside of vitro with time, respectively. The stability in the inside of vitro was evaluated. C6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and the NOH-P (35) parenteral solution which were prepared according to the example 29 were diluted with the physiological saline 5 times, respectively, and it considered as the concentration of 10mg/ml, and put gently on the bottom of a room temperature and protection from light, and TLC and HPLC purity of each drugs were measured according to the example 32 one day, one week, and one month after at the time of this agent preparation. Consequently, the chemical purity of each drugs in each measurement time is about 95.0% and 95.0% in one spot and HPLC analysis, respectively, removing 4 by TLC analysis, and it turned out that each drugs are stable for at least one month. In addition, at least one week of 4 was stable.

[0066] Example It is false [of each drugs / in] by TLC-analyzing and HPLC analyzing the purity in the inside of the plasma of the stability C6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and the NOH-P (35) parenteral solution in the inside of 34C6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and the fresh frozen plasma (in vivo) of a NOH-P (35) parenteral solution with time, respectively. The stability in the inside of vivo was evaluated. Dilute with a physiological saline C6-DP-diAsp(4) C10-Ga-DP-diAsp (18) and the NOH-P (35) parenteral solution which were prepared like the example 29 2.5 times, respectively, and it considers as the concentration of 20mg/ml. The fresh frozen plasma of this and tales doses was added (10mg [ml] /, pH7.1), it put gently on the bottom of temperature (36.5 degrees C) and protection from light, and TLC and HPLC purity of each drugs were measured according to the example 32 one day, one week, two weeks, three weeks, and one month after at the time of each drugs preparation. Consequently, in TLC analysis, the chemical purity of each drugs in each measurement time is about 90.0%, 95.0%, and 95.0% in one spot and

HPLC analysis, respectively, and it turned out that each drugs are stable for at least one month.

[0067]

[Effect of the Invention] Since the porphyrin derivative of this invention has the accumulation nature to a cancer cell, the reactivity over external energy, and a destructive operation of a cancer cell and moreover does not discover toxicity to a normal cell, it reaches [as cancer treatment medicine or a cancer diagnostic drug] to an extreme and is useful.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] It is drawing showing the mass analysis spectrum (FAB-NBA) of C6-Pd-DP-diAsp (21):

[Drawing 2] It is drawing showing the mass analysis spectrum (FAB-NBA) of NOH-P(35) dimethyl ester.

[Drawing 3] It is drawing showing the nuclear-magnetic-resonance spectrum (1 H-NMR) of C6-DP-diAsp (4).

[Drawing 4] It is drawing showing the nuclear-magnetic-resonance spectrum (1 H-NMR) of C10-In-DP-diAsp (26).

[Drawing 5] It is drawing showing the ultraviolet absorption spectrum of C10-Ga-DP-diAsp (18).

[Drawing 6] It is drawing showing the ultraviolet absorption spectrum of C10-Ga-DP-diAsp (18).

[Drawing 7] It is drawing showing the rate of cell proliferation inhibition after C6-DP-diAsp(4) administration.

[Drawing 8] It is drawing showing the rate of cell proliferation inhibition after C10-Zn-DP-diAsp(24) administration.

[Description of Notations]

1 Porphyrin Solution and Mixture of Physiological Saline
(0% of albumin concentration)

2 Mixture of Porphyrin Solution and Albumin Solution
(0.0011% of albumin concentration)

3 Mixture of Porphyrin Solution and Albumin Solution
(0.0033% of albumin concentration)

4 Mixture of Porphyrin Solution and Albumin Solution

(0.01% of albumin concentration)

5 Mixture of Porphyrin Solution and Albumin Solution

(0.03% of albumin concentration)

6 Mixture of Porphyrin Solution and Albumin Solution

(0.09% of albumin concentration)

7 Mixture of Porphyrin Solution and Albumin Solution

(0.9% of albumin concentration)

8 Porphyrin Solution and Mixture of Methanol

9 Those with Optical Exposure

10 With No Optical Exposure

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-97857

(43)公開日 平成5年(1993)4月20日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
C 0 7 D 487/22		7019-4C		
A 6 1 K 31/40	ADU	7252-4C		
41/00		8415-4C		
49/00	A	8415-4C		

審査請求 未請求 請求項の数4(全16頁)

(21)出願番号 特願平3-323597

(22)出願日 平成3年(1991)10月4日

(71)出願人 591273432

東洋薄荷工業株式会社

岡山県浅口郡里庄町大字浜中75番地の1

(72)発明者 阪田 功

岡山県笠岡市小平井1766番地の4

(72)発明者 中島 進

北海道旭川市緑が丘5条4丁目4番地の34

(72)発明者 小清水 弘一

奈良県奈良市法蓮山添西町856番地の10

(72)発明者 高田 弘之

岡山県浅口郡里庄町里見2098番地

(72)発明者 乾 裕史

岡山県笠岡市笠岡4913番地の9

(74)代理人 弁護士 高橋 三郎

(54)【発明の名称】 ポルフィリン誘導体とその用途

(57)【要約】

【目的】 本発明は、単一成分性、安定性、水溶性かつ特定の臓器特に癌への親和性に優れ、正常組織からの排出速度が速く光毒性を低減させることができ、しかもチタンサファイアレーザー(670nm以上600nm以下の波長)の使用が可能であるポルフィリン誘導体を合成・探索し、光物理化学的診断治療(PDT)に適した光増感剤を提供することを目的とする。

【構成】 本発明は、アルコキシポルフィリンアミノ酸誘導体およびそれらの金属錯体、ならびに血液由来のプロトポルフィリンより合成誘導体化したアルデヒド基担持クロリン類に付加あるいは縮合させて得られたポルフィリン誘導体で構成される。

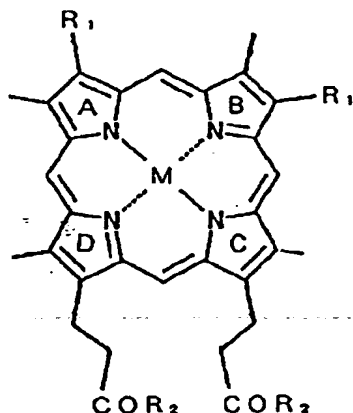
1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式 (I) 化1

(式中、 R_1 は $\text{CH}(\text{OR})\text{CH}_3$ 、 R_2 はアミノ酸から水素を除いた残基、 R はアルキル、 M は 2H 、 Ga 、 Zn 、 Pd 、 In 、 Sn) で示されるポルフィリン化合物またはそれらの金属錯体。

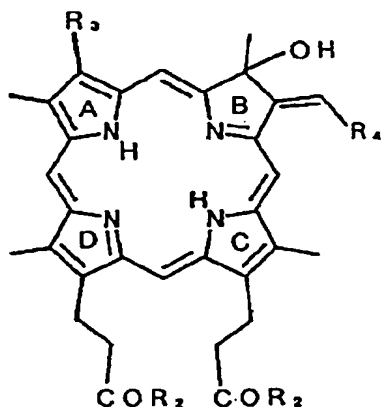
【化1】



【請求項2】 一般式 (II) 化2

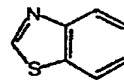
(式中、 R_3 は $\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $\text{CH}(\text{OR})\text{CH}_3$ 、 CHO 、 $\text{CH}=\text{NOH}$ または CH_2OH 、 R_4 は $\text{CH}=\text{X}$ 、 $\text{C}(\text{OH})\text{OSO}_2\text{Na}$ 、 $\text{CH}(\text{SCH}_2-\text{COOH})_2$ 、 $\text{CH}(\text{OR})_2$ または化3、 X は O 、 $\text{C}(\text{CN})_2$ 、 $\text{N}=\text{W}$ または $\text{C}(\text{Y})\text{Z}$ 、 W は OH 、 OCOCH_3 または $\text{NH}-\text{E}$ 、 E は H 、アルキル、 $\text{COC}_5\text{H}_4\text{N}$ 、 CONH_2 、 CSNH_2 、 COOCH_3 、 $\text{COCH}_2\text{NCl}(\text{CH}_3)_2$ または $\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH}$ 、 Y は H またはアルキル、 Z は NO_2 または COF 、あるいは化4で示す環状構造、 F はメチル、フェニル、アミノフェニルまたはヨノンの残基、 R_2 は OH 、アミノ糖またはアミノ酸から水素を除いた残基、 R はアルキル) で示されるポルフィリン化合物。(但し、式中、4つのテトラピロール環のうちA及びB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む。)

【化2】

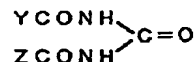


2

【化3】



【化4】



【請求項3】 請求項1および2記載のポルフィリンおよび金属ポルフィリン化合物からなる光物理化学的診断用および/または治療用増感剤。

【請求項4】 癌の診断および/または治療に使用される請求項3記載の光物理化学用増感剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ポルフィリン誘導体とその用途、特に新規なポルフィリンおよび金属ポルフィリン誘導体を有効成分とする光物理化学的診断用および治療用の増感剤および/または光物理化学による癌の診断および治療に用いる薬剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 癌の新しい治療法として光物理化学的診断治療 (PDT) が行われている。これはある種のポルフィリン化合物を静脈注射などの方法により投与し、癌組織に保持させた後、レーザー光を照射して癌組織のみを選択的に破壊するというものである。PDTは、ポルフィリンの癌組織に保持される時間が正常組織に比べて長いという性質と光増感作用を持つという2つの性質を利用している。過去13年間に世界中で3000人以上の人々がPDTによる悪性腫瘍の治療を受けており、癌治療法の1つとして定着しつつある。PDTにより良好な治療成績が報告されている癌種は、網膜癌、皮膚癌、食道癌、表在性膀胱癌、初期の肺癌など多岐に渡っている。

【0003】 現在PDTに使用されている薬剤は主としてヘマトポルフィリン誘導体 (HPD) およびそのエーテル体および/またはエステル体の二量体である。HPDはヘマトポルフィリンを酢酸中硫酸処理し、さらに0.1N水酸化ナトリウムで処理して得られる混合物である。二量体はHPDの疎水性の高い成分を主として含んでおり、HPDとともに複雑な混合物であり活性成分が不明である。また成分比が一定でないために治療効果が極めて不安定である。

【0004】 一方、PDTのための新しいポルフィリン誘導体として、 R_1 が低級アルキル基、 R_2 が4級アンモニウム塩誘導体であるものが特開平1-246286号、昭63-145283号、昭62-205082号および昭62-167783号に、 R_1 としてエーテル結合を持った誘導体であるものが特開昭62-249986号、昭62-246580号、昭62-246579号および昭62-205081号に、そしてJ. F.

Evensenらにより [Br. J. Cancer, 55, 483 (1987)] に開示されている。また、クロリン誘導体が特開平1-250381号、昭63-290881号、昭62-5986号、昭62-5985号、昭62-5924号、昭62-5912号、昭58-981号および昭57-185220号に、ポルフィリンダイマー誘導体が米国特許4649151号 (1987)、特開昭62-63586号および昭60-500132号に、ポルフィリン金属錯体が特開平1-221382号、昭63-104987号および昭57-31688号に開示されている。我々も種々検討し、クロリン誘導体を特開昭61-7279号および昭60-92287号に、ポルフィリン金属錯体を特開平2-138280号、平2-76881号、昭62-182663号、昭62-174079号および昭61-83185号に、バクテリオクロリン誘導体を特開昭63-196586号に開示してきた。しかしながら、PDT用の増感剤として用いるには上記化合物では合成、安定性、水溶性の面において実用化が困難であった。

【0005】またPDTに使われるレーザー光の組織透過性の問題もある。HPDやその二量体は最大吸収波長が630nmであり、モル吸光係数も3000と低い。630nmの光では組織透過性が悪く、PDTの治療効果が5~10mmの表層癌に限定されてしまっている。

【0006】一方レーザー装置の方にも問題がある。現在最もよく使用されている色素レーザーは安定性が悪く、運用上取扱いが難しい。最近注目を集めているチタンサファイアレーザーを用いれば運用がかなり簡単になる。しかしこのレーザーを用いると670nm以上600nm以下の吸収波長に限られ、630nm付近の吸収波長を持つHPDやその二量体に適用できない。

【0007】更に薬剤の副作用として一時的な光過敏症を引き起こすことが知られている。このため薬剤投与後、皮膚などの正常組織が光増感作用で破壊されないように患者を長期間暗所に閉じ込めておかなければならない。HPDおよびその二量体は正常組織からの排出速度が遅いので長いときには6週間以上も光過敏症が残ることもある。現在使用されている薬剤はこうした多くの問題点を抱えておりHPDおよびその二量体に代わる新しい薬剤の開発が強く望まれている。そこで上記薬剤が持つ欠点を克服するものとして単一化合物でありかつより長波長領域 (650~800nm) に吸収を持つ化合物が第2世代の薬物として提案されている。現在フタロシアンニンなどのアザポルフィリン類、クロリン・バクテリオクロリンなどのポルフィリン類、テキサフィリンなどの環状型ポルフィリン類などさまざまな化合物がHPDやその二量体に代わる薬剤として研究されている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、単一成分であり安定かつ癌組織に対する良好な集積性を維持し

たまま、正常組織からは排出速度が速く光毒性を低減させ、しかもできればチタンサファイアレーザー (670nm以上600nm以下の波長) の使用が可能であるポルフィリン誘導体を探索し、PDTに適した光増感剤を提供することを目的として、種々の研究を重ねた。

【0009】

【問題を解決するための手段】その結果、前項誘導体 [特開平2-138280号、米国出願375482号 (1989)、欧州出願89112955. 3号 (1989)] の中で多官能性基を有する特定の側鎖を結合させたある種の金属ポルフィリン誘導体、およびポルフィリン誘導体ならびに血液由来のプロトポルフィリンより合成誘導体化したクロリン類にある種のアルコキシル基あるいは種々の官能基を持つ基、アミノ酸残基を有する特定の側鎖を結合させると、単一成分で、癌組織に対して優れた集積性と正常組織より良好な排出性を、しかも金属ポルフィリン誘導体については600nm以下、合成クロリン化誘導体については670nm以上の吸収波長を持ち、かつ良好なPDT効果を有することを見出した。

【0010】また本発明者らは本研究開発途中で、ポルフィリンとアルブミンの混液の紫外線吸収 (UV) スペクトルを分析したところ、スペクトルの動向が特定臓器特に癌への親和性と一定の法則があることを見出した。

【0011】本発明は上記の知見に基づいて完成されたものであって、その要旨は

一般式 (I) 化1

(式中、 R_1 は $CH(OR)CH_3$ 、 R_2 はアミノ酸から水素を除いた残基、 R はアルキル、 M は $2H$ 、 Ga 、 Zn 、 Pd 、 In 、 Sn) で示されるポルフィリン化合物またはそれらの金属錯体。

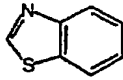
一般式 (II) 化2

(式中、 R_3 は $CH=CH_2$ 、 $CH(OR)CH_3$ 、 CHO 、 $CH=NOH$ または CH_2OH 、 R_4 は $CH=X$ 、 $C(OH)OSO_2Na$ 、 $CH(SCH_2COOH)_2$ 、 $CH(OR)_2$ または化5、 X は O 、 $C(CN)_2$ 、 $N-W$ または $C(Y)Z$ 、 W は OH 、 $OCOCH_3$ または $NH-E$ 、 E は H 、アルキル、 COC_5H_4N 、 $CONH_2$ 、 $CSNH_2$ 、 $COOCH_3$ 、 $COCH_2NCI(CH_3)_2$ または $C(NH_2)=NH$ 、 Y は H またはアルキル、 Z は NO_2 または COF 、あるいは化6で示す環状構造、 F はメチル、フェニル、アミノフェニルまたはヨノンの残基、 R_2 は OH 、アミノ糖またはアミノ酸から水素を除いた残基、 R はアルキル) で示されるポルフィリン化合物に存する。(但し、式中、4つのテトラピロール環のうちA及びB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む。)

【0012】

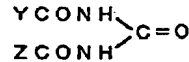
【化5】

5



【0013】

【化6】



【0014】上記各記号の意味に関して使用された「アルキル」なる語は炭素数20以下、好ましくは炭素数1〜18のアルキル（例えばメチル、エチル、ヘキシル、

【0015】本発明のポルフィリン化合物は、自体常套によって製造することができる。一般式(I)に対応するポルフィリン化合物にあっては、R₁を有するものを構成し(工程a)、ついでそのまま次の工程cに進むかまたはこれに金属を導入し(工程b)、得られたポルフィリン化合物およびそれらの金属錯体のR₂にアミノ酸の残基を結合せしめる(工程c)。また必ずしも工程(a)、(b)、(c)と順次反応せしめる必要もなく、例えば工程(b)、(a)、(c)または工程(a)、(c)、(b)のように工程順が代わっても良い。

【0016】一方、一般式(II)に対応するポルフィリン化合物にあっては、まずR₂を有するものを構成し(工程d)、ついでこれをR₄特にアルデヒド基を有する化合物に誘導体化し(工程e)、得られたクロリン誘導体に種々の化合物を付加または縮合させ(工程f)、そして必要あらばアミノ糖やアミノ酸の残基を結合せしめる(工程c)。

【0017】構成工程(a、b、dおよびe)はJ. E. Falk著[Porphyrins and Metalloporphyrins](Elsevier発行、1975年)およびD. Dolphin著[The Porphyrins](Academic Press発行、1978年)等に記載された常套の方法によってこれを行うことができる。

【0018】例えば(I)に対応するR₁を有するポルフィリン化合物およびそれらの金属錯体であるものは、特開昭61-7279号、特開昭61-83185号、特許公報昭63-13997号、特開平2-76881号、特開平2-138280号および特願平2-1684990号に記載された方法に従ってこれを調製すれば良い。すなわち工程(a)についてはポルフィリン化合物(I)のR₁側鎖にRを導入すればよく、あらかじめ

(I)のBr誘導体を調製し、これとアルコール類の水酸基との間で反応を進行させるか、またはルイス酸を用いて反応させることが好ましいが、これにとらわれることはない。工程(b)については通常、金属の塩化物、

6

酢酸塩、硫酸塩、硝酸塩等を使用してこれを行う。金属の種類としては、燐光寿命をのばす効果があるGa、Zn、Pd、In、Snなどがあげられる。またこの金属導入工程(b)は(a)工程の前後を問わず、必要に応じ調製して良い。例えば、先ず金属導入工程(b)を行い、ついで金属ポルフィリン化合物のBr誘導体を調製しこれとアルコール類との間で反応させるか、またはルイス酸を用いてアルコール類との反応(工程a)を進行させても何ら問題はない。人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取してもよい。

【0019】以上のようにして構成したポルフィリン化合物およびその金属錯体を次にアミノ酸の残基の結合工程(c)に付す。すなわち、R₂が水酸基であるポルフィリン化合物またはその金属錯体(I)にアミノ酸を反応させて、R₂がアミノ酸担持ポルフィリン化合物またはその金属錯体(I)を製造する。このものは泉屋ら著「ペプチド合成の基礎と実験」(丸善発行、1985年)等に記載された常套の方法によってこれを行うことができ、特開昭64-61481号、特開平2-76881号、特開平2-138280号および特願平2-168499号に記載された方法に従ってこれを調製すればよい。人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取してもよい。

【0020】この場合、要はポルフィリン化合物の側鎖にアミノ酸の残基を導入すればよいから、(I)のR₂側鎖のカルボキシル基とアミノ酸のアミノ基との間で反応を進行させることが好ましく、このため前者のカルボキシル基および/または後者のアミノ基を常套の反応性基に変換したり、両者に存在する反応に関与することが好ましくない官能基を適宜に保護することが考慮されてよい。なお、いずれの場合も適宜脱水剤や脱酸剤のような反応促進剤や縮合剤の使用も考慮されてよい。

【0021】以下、代表例を挙げてポルフィリン化合物およびそれらの金属錯体(I)の調製を更に具体的に説明する。例えば、R₂が水酸基を持ったポルフィリン化合物およびその錯体(特開昭61-7279号、昭61-83185号、特許公報昭63-13997号、特開平2-76881号、特開平2-138280号または特願平2-168499号)にアミノ酸メチルエステル等を溶媒中で縮合剤[例えばジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)や水溶性カルボジイミド(WSC)]等を用いて反応せしめて、R₂の側鎖にアミノ化合物が結合したポルフィリン化合物またはそれらの金属錯体(I)を得る。その具体例としては以下のものを挙げる事ができる。

【0022】(1) 2、4-ビス(1-プロポキシエチル)-デューテロポルフィニルジアスパラギン酸(以下C₃-DP-diAspと言う)

(2) 2、4-ビス(1-ブトキシエチル)-デューテ

ロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₄-DP-di Aspと言う)

(3) 2、4-ビス(1-ペンチルオキシエチル)-デューテロボルフィニルジアスパラギン酸 (以下C₅-DP-di Aspと言う)

(4) 2、4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)-デューテロボルフィニルジアスパラギン酸 (以下C₆-DP-di Aspと言う)

(5) 2、4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-デューテロボルフィニルジアスパラギン酸 (以下C₈-DP-di Aspと言う)

(6) 2、4-ビス(1-デシルオキシエチル)-デューテロボルフィニルジアスパラギン酸 (以下C₁₀-DP-di Aspと言う)

(7) 2、4-ビス(1-ブトキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニルジアスパラギン酸 (以下C₄-Ga-DP-di Aspと言う)

(8) 2、4-ビス(1-ペンチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジセリン (以下C₅-Ga-DP-di Serと言う)

(9) 2、4-ビス(1-ペンチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₅-Ga-DP-di Aspと言う)

(10) 2、4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₆-Ga-DP-di Aspと言う)

(11) 2、4-ビス(1-ヘプチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₇-Ga-DP-di Aspと言う)

(12) 2、4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジグリシン (以下C₈-Ga-DP-di Glyと言う)

(13) 2、4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジセリン (以下C₈-Ga-DP-di Serと言う)

(14) 2、4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₈-Ga-DP-di Aspと言う)

(15) 2、4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジグルタミン酸 (以下C₈-Ga-DP-di Gluと言う)

(16) 2、4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジチロシン (以下C₈-Ga-DP-di Tyrと言う)

(17) 2、4-ビス(1-ノニルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₉-Ga-DP-di Aspと言う)

(18) 2、4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₁₀-Ga-DP-di Aspと言う)

(19) 2、4-ビス(1-ドデシルオキシエチル)-Ga-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₁₂-Ga-DP-di Aspと言う)

(20) 2、4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)-Zn-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₆-Zn-DP-di Aspと言う)

(21) 2、4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)-Pd-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₆-Pd-DP-di Aspと言う)

(22) 2、4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)-In-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₆-In-DP-di Aspと言う)

(23) 2、4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)-Sn-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₆-Sn-DP-di Aspと言う)

(24) 2、4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Zn-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₁₀-Zn-DP-di Aspと言う)

(25) 2、4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Pd-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₁₀-Pd-DP-di Aspと言う)

(26) 2、4-ビス(1-デシルオキシエチル)-In-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₁₀-In-DP-di Aspと言う)

(27) 2、4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Sn-デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下C₁₀-Sn-DP-di Aspと言う)

【0023】一方、(11)に対応するR₃のRを有するボルフィリン化合物であるものは、前述のa工程に記載された方法に従ってこれを調製すれば良い。またR₃のアルデヒド基以下に記載の化合物については、プロトボルフィリン ジメチルエステル (以下PP-Meと言う) を光化学反応処理して1-ヒドロキシ-2-ホルミルエチリデン-プロトボルフィリン ジメチルエステル (以下フォトプロトボルフィリン ジメチルエステルと言う) を調製し (工程e)、次いでこれを還元後、過ヨウ素酸等の酸化剤で2-ホルミル-4-ビニル-デューテロボルフィリンジメチルエステル (以下スピログラフィスボルフィリン ジメチルエステルと言う) とする (工程d)。(ただし、4つのテトラピロール環のうちAおよびB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった4-ホルミル-2-ビニル体も含む。)クロリン化工程 (e)については光化学反応を利用するのが好ましく、R₄がアルデヒド基を有するクロリン化合物 (フォトプロトボルフィリン) を得る。人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取してもよい。

【0024】次に、以上のようにして構成したクロリン化合物を付加および/または縮合工程 (f) に付す。すなわちR₄がアルデヒド基であるボルフィリン化合物

(I I) に、亜硫酸水素ナトリウム、メルカプタール、アルコール等を反応させて付加体ポルフィリン化合物を、またヒドロキシルアミン、ヒドラジン、マロン酸誘導体等を反応させて縮合体ポルフィリン化合物を製造する。このものは一般有機化学実験書中〔アルコール、ヒドロキシルアミン、ヒドラゾン、セミカルバゾン、アミノチオフェノール、マロン酸エステル等とアルデヒド化合物との付加または縮合反応〕に記載された常套の方法によってこれを行うことができる。なお、いずれの場合も適宜脱水剤や脱酸剤のような反応促進剤や縮合剤の使用も考慮されてよい。

【0025】以下、代表例を挙げてポルフィリン化合物(I I)の調製を更に具体的に説明する。例えばR₄がアルデヒド基を持ったクロリン化合物(フォトプロトポルフィリン誘導体)に亜硫酸水素ナトリウム等を溶媒中で反応せしめ、亜硫酸水素ナトリウムが付加したポルフィリン化合物(I I)を得る。一方、フォトプロトポルフィリン誘導体にアミノ基を持つ化合物(例えばヒドロキシルアミン、ヒドラジン誘導体、セミカルバジド、アミノチオフェノール等)や活性水素基を持つ化合物(例えばマロンニトリル、バルビツール酸、アセトン、アセトフェノン、アミノアセトフェノン、ヨノン等)を溶媒中で縮合剤(例えばピリジン、ピペリジン、酸、アルカリ等)を用いて反応せしめて、R₄の側鎖にこれらの化合物が縮合したポルフィリン化合物(I I)を得る。その具体例としては以下のものを挙げることができる。

【0026】(28) 2-ビニル-3-ヒドロキシ-4-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリン ジメチルエステル(フォトプロトポルフィリン ジメチルエステル) 亜硫酸水素ナトリウム付加物(以下NaHSO₃-P-Meと言う)

(29) フォトプロトポルフィリン ジメチルエステル 酢酸メルカプタール(以下HOAcS-P-Meと言う)

(30) フォトプロトポルフィリン ジエチルアセタール(以下EtO-Pと言う)

(31) 2-(1-ヘキシルオキシエチル)-3-ヒドロキシ-4-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリン(C₆-フォトプロトポルフィリン)(以下C₆-Pと言う)

(32) C₆-フォトプロトポルフィリン ジアスパラギン酸(以下C₆-P-di Aspと言う)

(33) 2-(1-デシルオキシエチル)-3-ヒドロキシ-4-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリン(C₁₀-フォトプロトポルフィリン)(以下C₁₀-Pと言う)

(34) C₁₀-フォトプロトポルフィリン ジアスパラギン酸(以下C₁₀-P-di Aspと言う)

(35) フォトプロトポルフィリン オキシム(以下NOH-Pと言う)

(36) 2-ホルミル-3-ヒドロキシ-4-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリン(スピログラフィスフォトプロトポルフィリン)(以下SPと言う)

(37) フォトプロトポルフィリン 塩化トリメチルアセトヒドラゾン(以下G' THZ-Pと言う)

(38) フォトプロトポルフィリン ヒドロオキサム酸(以下N2OH-Pと言う)

(39) スピログラフィスフォトプロトポルフィリン ジオキシム(以下2NOH-SPと言う)

(40) フォトプロトポルフィリン 酢酸オキシム(以下NOAc-Pと言う)

(41) フォトプロトポルフィリン t-ブチルヒドラゾン(以下t BuHZ-Pと言う)

(42) フォトプロトポルフィリン グアニルヒドラゾン(以下GHZ-Pと言う)

(43) フォトプロトポルフィリン ニコチン酸ヒドラゾン(以下NHZ-Pと言う)

(44) フォトプロトポルフィリン ニコチン酸ヒドラゾン ジアスパラギン酸(以下NHZ-P-di Aspと言う)

(45) フォトプロトポルフィリン 炭酸ヒドラゾン(以下CHZ-Pと言う)

(46) フォトプロトポルフィリデン バルビツール酸(以下BA-Pと言う)

(47) フォトプロトポルフィリン セミカルバゾン(以下NH₂ CONHN-Pと言う)

(48) フォトプロトポルフィリン チオセミカルバゾン(以下NH₂ CSNHN-Pと言う)

(49) フォトプロトポルフィリン ベンゾチアゾール(以下BT-Pと言う)

(50) フォトプロトポルフィリン マロンニトリル(以下MCN-Pと言う)

(51) フォトプロトポルフィリデン ニトロメチレン(以下NO₂-Pと言う)

(52) フォトプロトポルフィリデン ニトロエチレン(以下MeNO₂-Pと言う)

(53) フォトプロトポルフィリデン ニトロプロピレン(以下EtNO₂-Pと言う)

(54) フォトプロトポルフィリデン アセトン(以下Me₂CO-Pと言う)

(55) フォトプロトポルフィリデン アセトン ジアスパラギン酸(以下Me₂CO-P-di Aspと言う)

(56) フォトプロトポルフィリデン ヨノン ジアスパラギン酸(以下Io-P-di Aspと言う)

(57) フォトプロトポルフィリデン ヨノンオキシム ジアスパラギン酸(以下NOH-Io-P-di Aspと言う)

(58) フォトプロトポルフィリデン アセトフェノン(以下PhCO-Pと言う)

(59) フォトプロトポルフィリデン アミノアセトフェノン (以下 $\text{NH}_2\text{PhCO-P}$ と言う)

(60) フォトプロトポルフィリニルオキシム アミノグルコース (以下 NOH-P-NHglu と言う)

【0027】本発明によるポルフィリン誘導体の医薬品製剤の製造は自体公知法により行われ、本発明による誘導体を適当な緩衝液で溶解するだけでよい。好適な添加物として例えば医薬的に認容できる溶解補助剤 (例えば有機溶媒)、pH調製剤 (例えば酸、塩基、緩衝液)、安定剤 (例えばアスコルビン酸)、賦形剤 (例えばグルコース)、等張化剤 (例えば塩化ナトリウム) などが配合されても良い。

【0028】本発明による薬剤はPDT用薬剤としての必要十分な特性すなわち長燐光寿命、アルブミンに対する親和性、特定臓器特に癌に対する特異的集積性、光殺細胞効果、吸収波長、水溶性、純度などを充分満足しているものである。本発明による薬剤の良好な水溶性は、高濃度溶液 (50mg/ml) の製造を可能とし、更に本発明による薬剤は試験管内だけでなく生体内でも高い安定性を示す。一般に、PDT用薬剤として適用するためには本発明の薬剤を1mg~5mg/kg体重の量で投与するのが望ましい。

【0029】

【作用】本発明にかかるポルフィリン化合物は、ポルフィリン骨格の側鎖にアルコキシ残基・アミノ酸残基、またはアルデヒド残基およびその付加体・縮合体あるいはポルフィリン骨格内に金属錯体を有する点に化学構造上の特徴を有し、その結果種々の生理学的もしくは薬理学的特性を発揮する。

【0030】これらポルフィリン誘導体は癌細胞に選択的に集積し、かつ癌細胞からの排泄が遅い。なお、正常な臓器や細胞からは速やかに排泄されるため、それらに損傷を与えることはない。元来、ポルフィリン誘導体の殆んどものは光に対して強い作用を有するが、本発明に従ってポルフィリン誘導体の側鎖に多官能性化合物残基を導入することによって正常組織からの排泄性を高めるとともに、光毒性の発現を極力抑制するようデザインした誘導体が可能となった。また、ポルフィリンをクロリン誘導体化して波長がレッドシフトすることにより治療効果の深達度をはかることができた。これらの特性 (癌親和性、光殺細胞効果、吸収波長、水溶性) に基づき、本発明のポルフィリン誘導体は特定の臓器、特に癌や悪性腫瘍に対するPDT薬剤として有用である。

【0031】

【実施例】

実施例 1

ポルフィリン化合物 (I) の合成

特開平2-138280号および特願平2-168499号に掲げた方法により合成した。出発原料としてプロトポルフィリン ジメチルエステル (以下PP-Meと

言う) 5gを用い、これに10%臭化水素酸/酢酸30mlを加え一昼夜攪拌した。続いて反応溶液を減圧濃縮し、残渣にアルコール類 (例えばヘキシルアルコール $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{OH}$) 18mlを加えて、室温下、一昼夜攪拌反応した。(ポルフィリン誘導体へのアルコール残基の導入) 反応後、残渣を2N水酸化カリウム/エタノール溶液60mlを加えて加水分解を行った。(エステルのケン化)

1N塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。濃縮物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: n-ヘキサン-酢酸エチル ステップワイズ法) にて精製して、2, 4-ビス (1-ヘキシルオキシエチル) -デューテロポルフィリンを得た。(3.3g)

得られたアルコキシ体全量を常法によりジシクロヘキシルアミン(DCHA)でDCHA塩とした。本DCHA塩全量をクロロホルム30mlおよびアセトニトリル15mlを加えて溶解した。次いでアスパラギン酸 ジメチルエステル $[\text{Asp}(\text{OMe})_2]$ 塩酸塩3gを加え、攪拌下にWSC1.8gを徐々に加えて2時間反応せしめた。反応後、反応液を水洗、分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再結晶化を行い、2, 4-ビス (1-ヘキシルオキシエチル) -デューテロポルフィニルジアスパラギン酸 テトラメチルエステルを得た。得られたアミド体全量を常法により、2N水酸化カリウム/エタノール溶液で加水分解を行い目的物の粗結晶を得た。次いで、この粗結晶をオクチルシリカゲル

(C₈) 中圧高速分取液体クロマトグラフィー [溶離液: メタノール-水 (9:1)] にて精製を行い、2, 4-ビス (1-ヘキシルオキシエチル) -デューテロポルフィニル ジアスパラギン酸 $[\text{C}_6\text{-DP-diAsp} (4)]$ を得た。(3.43g、全収率40.6%)

【0032】実施例 2

金属ポルフィリン化合物 (I) の合成

特開平2-138280号および特願平2-168499号に掲げた方法を改良して合成した。出発原料としてPP-Me30gを用い、ガリウム錯体化後、これに10%臭化水素酸/酢酸300mlを加え一昼夜攪拌した。続いて反応溶液を減圧濃縮し、残渣にメタノール200mlを加えて、室温下、一昼夜攪拌反応した。(ポルフィリン誘導体へのメトキシ基の導入) 水を加えて赤紫色沈殿物を生成せしめ濾取した。(30g)

沈殿物にアルコール類 (例えばデシルアルコール $\text{C}_{10}\text{H}_{23}\text{OH}$) 150mlを加えて、ルイス酸 (例えば塩化第二スズ) 触媒下、加温攪拌反応した。(メトキシポルフィリン誘導体へのアルコール残基の交換反応) 反応後、反応液を抽出減圧濃縮し、残渣を2N水酸化カリウム/エタノール溶液60mlを加えて加水分解を行った。(エステルのケン化)

1N塩酸で中和後、一昼夜冷蔵庫で静置すると赤紫色の沈殿が生成した。沈殿物を濾取し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液；n-ヘキサン-酢酸エチル

ステップワイズ法）にて精製して、2,4-ビス（1-デシルオキシエチル）-デューテロポルフィリンのガリウム錯体を得た。（14.4g）

得られた錯体全量を実施例1と同様にアミド化、加水分解、精製の操作を行い、2,4-ビス（1-デシルオキシエチル）-Ga-デューテロポルフィニルジアスパラギン酸[C₁₀-Ga-DP-diAsp(18)]を得た。（15.7g、全収率25.5%）

【0033】実施例 3

フォトプロトポルフィリンの合成

R. K. Dinelloらの方法[The Porphyrins, Academic Press発行、Vol. 1. 303 (1978)]に準じて合成した。P-Me 100gをクロロホルム10lに溶解し、光照射下一週間反応させた。（ポルフィリンからクロリン誘導体化）反応後減圧濃縮し、残渣を得た。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：n-ヘキサン-クロロホルム）にて精製して、1(3)-ヒドロキシ-2(4)-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル（フォトプロトポルフィリンジメチルエステル、以下P-Meと言う）を得た。（50.0g）続いて、これをピリジン・メタノール混液中で加水分解して暗緑色結晶のフォトプロトポルフィリン（以下Pと言う）を得た。（43.0g、全収率47.4%）

【0034】実施例 4

実施例3で得られたP-Me 300mgをピリジン150mlに溶解し、攪拌下に30%亜硫酸水素ナトリウム水溶液30mlを徐々に加え3時間反応させた。反応液を20%クエン酸水溶液で中和後、クロロホルムで抽出し水洗後減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにより結晶化を行い、NaHSO₃-P-Me(28)を得た。（50mg、14.3%）

【0035】実施例 5

10%臭化水素酸/酢酸の代わりに3%のそれを用いる以外は実施例1と同様に処理し、合成中間体としてヘキシルアルコールからは2-(1-ヘキシルオキシエチル)-4-ビニル-デューテロポルフィリンを、デシルアルコールからは2-(1-デシルオキシエチル)-4-ビニル-デューテロポルフィリンをそれぞれ4g得た。得られたモノアルコキシ体全量を実施例3と同様にして光照射反応を行い後処理し、C₆-P(31)およびC₁₀-P(33)を得た。（0.88g、21.0%および1.1g、6.5%）これら光酸化反応物[31(0.8g)、33(1.0g)]をそれぞれ別々に実施例1と同様に操作し、アミド化ならびに加水分

解処理し、C₆-P-diAsp(32)およびC₁₀-P-diAsp(34)を別々に得た。（450mg、42.3%および160mg、12.3%）

【0036】実施例 6

実施例3で得られたP 300mgをピリジン100mlに溶解し、室温攪拌下に30%ヒドロキシルアミン塩酸塩溶液を加えて30分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NOH-P(35)を得た。（250mg、81.3%）

【0037】実施例 7

P-Me 1gをクロロホルム300mlに溶解し、室温攪拌下に5%ナトリウムボロハイドライドのメタノール溶液20mlを滴下後30分間反応せしめた。反応後、反応液に10%クエン酸水溶液を加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をジオキサン100mlに溶解し、10%過ヨウ素酸ナトリウム水溶液10mlおよび3%塩酸40mlを加え、室温で18時間放置した。反応溶液中に再結晶した紫色結晶を濾取し、水洗乾燥後クロロホルム120mlに溶解し、光照射下48時間反応させた。反応後減圧濃縮し、残渣を得た。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー（溶離液；クロロホルム-アセトン）にて精製し、SPジメチルエステル150mgを得た。得られたSPジメチルエステル全量をピリジン30mlに溶解し、10%水酸化ナトリウム水溶液5mlを加えて加水分解し、20%クエン酸水溶液にて中和後クロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、SP(36)を得た。（120mg、12.5%）

【0038】実施例 8

P 200mgをメタノール40mlに溶解し、室温攪拌下にジラード試薬T 400mgを加えて1時間反応せしめた。反応後、反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、G'-THZ-P(37)を得た。（200mg、79.9%）

【0039】実施例 9

P 300mgをメタノールに溶解し、室温攪拌下にベンゼンルホビドロキサミン酸300mgと1N水酸化ナトリウム4mlを加えて18時間反応せしめた。反応後、反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、N2OH-P(38)を得た。（60mg、19.0%）

【0040】実施例 10

実施例7の中間体として得られるSPジメチルエステ

ル500mgをピリジン100mlに溶解し、室温攪拌下に30%ヒドロキシルアミン塩酸塩水溶液10mlを加えて30分間反応せしめた。反応後、反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NOH-SPジメチルエステル450mgを得た。得られたNOH-SPジメチルエステルを常法により加水分解を行った。1N塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、2NOH-SP(39)を得た。(180mg、35.9%)

【0041】実施例 11

実施例6で得たNOH-P100mgをピリジン20mlに溶解し、室温攪拌下に無水酢酸1mlを加えて6時間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NOAc-P(40)を得た。(60mg、19.0%)

【0042】実施例 12

P200mgをピリジン50mlに溶解し、室温攪拌下にt-ブチルヒドラジン400mgおよび10%アミノグアニジン塩酸塩水溶液4mlをそれぞれ別々に加えて18時間反応せしめた。反応後、それぞれの反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られたそれぞれの濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、t-BuHZ-P(41)およびGHZ-P(42)を得た。(80mg、35.7%および190mg、87.2%)

【0043】実施例 13

P200mgをピリジン20mlに溶解し、ニコチン酸ヒドラジド730mgおよびカルバジン酸メチルエステルをそれぞれ別々に加えて50℃加温攪拌下3時間反応せしめた。反応後、それぞれの反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られたそれぞれの濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NHZ-P(43)およびCHZ-P(45)を得た。(33mg、13.8%および130mg、58.0%)

【0044】実施例 14

実施例13で得たNHZ-P930mgを常法によりDCHA塩とした。本DCHA塩全量をクロロホルム50mlおよびアセトニトリル25mlを加えて溶解した。次いでアスパラギン酸ジメチルエステル塩酸塩930mgを加え、攪拌下にWSC1.5gを徐々に加えて反応せしめた。反応後、反応液を水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をピリジンに溶解し、常法により10%水酸化ナトリウム水溶液にて加水

分解を行った。20%クエン酸水溶液で中和後クロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NHZ-P-diAsp(44)を得た。(870mg、71.0%)

【0045】実施例 15

P150mgをピリジン20mlに溶解し、室温攪拌下にバルビツール酸150mgおよびマロンニトリル20mlをそれぞれ別々に加えて30分間反応せしめた。反応後、それぞれの反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られたそれぞれの濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、BA-P(46)およびMCN-P(50)を得た。(20mg、11.2%および50mg、30.9%)

【0046】実施例 16

P200mgをピリジン20mlに溶解し、室温攪拌下に塩酸セミカルバジド200mgおよび塩酸チオセミカルバジド400mgをそれぞれ別々に加えて50分間反応せしめた。反応後、それぞれの反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られたそれぞれの濃縮物をピリジン-クロロホルム-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NH₂CONHN-P(47)およびNH₂CSNHN-P(48)を得た。(160mg、73.0%および70mg、31.2%)

【0047】実施例 17

P300mgをピリジン50mlに溶解し、o-アミノベンゼンチオール10mlを加えて60℃加温攪拌下18時間反応せしめた。反応後、反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、BT-P(49)を得た。(350mg、98.9%)

【0048】実施例 18

P100mgをピリジン8mlに溶解し、室温攪拌下にニトロメタン、ニトロエタンおよびニトロプロパンをそれぞれ別々に8mlずつ加え、さらにナトリウムエチラートを600mgずつ添加し、それぞれ85分間、70分間、24時間反応せしめた。反応後、それぞれの反応液に20%クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られたそれぞれの濃縮物をクロロホルム-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NO₂-P(51)、MeNO₂-P(52)およびEtNO₂-P(53)を得た。(60mg、56.0%、40mg、36.5%および70mg、62.5%)

【0049】実施例 19

P-Me3gアセトン1.1lとメタノール300mlの混液に溶解し、室温攪拌下に10%水酸化ナトリウム

水溶液 365 ml を加えた。次に 20% クエン酸水溶液にて中和した後クロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をクロロホルム-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、 $\text{Me}_2\text{CO-P}$ (54) を得た。(2.6 g、85.0%)

【0050】実施例 20

実施例 19 で得た $\text{Me}_2\text{CO-P}$ 2.6 g を常法により DCHA 塩とした。本 DCHA 塩全量をクロロホルム 50 ml およびアセトニトリル 25 ml を加えて溶解した。次いでアスパラギン酸 ジメチルエステル塩酸塩 3.05 g を加え、攪拌下に、WSC 3.0 g を徐々に加えて反応せしめた。反応後、反応液を水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をピリジンに溶解し、常法により 10% 水酸化ナトリウム水溶液にて加水分解を行った。20% クエン酸水溶液で中和後クロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、 $\text{Me}_2\text{CO-P-diAsp}$ (55) を得た。(870 mg、24.6%)

【0051】実施例 21

P-Me 100 mg をピリジン 8 ml に溶解し、室温攪拌下に β -ヨノン 8 ml を加え、さらに 10% 水酸化ナトリウム水溶液を 6 ml 加えて 20 分間反応せしめた。反応後、反応液に 20% クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (溶離液: n-ヘキサン-酢酸エチル) にて精製し、I-o-P ジメチルエステル 80 mg を得た。得られた I-o-P ジメチルエステルをピリジンに溶解し、常法により 10% 水酸化ナトリウム水溶液にて加水分解を行った。20% クエン酸水溶液で中和後クロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、I-o-P 70 mg を得た。得られた I-o-P を常法により DCHA 塩とした。本 DCHA 塩全量をクロロホルム 10 ml およびアセトニトリル 5 ml を加えて溶解した。次いでアスパラギン酸 ジメチルエステル塩酸塩 70 mg を加え、攪拌下に、WSC 50 mg を徐々に加えて反応せしめた。反応後、反応液を水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をピリジンに溶解し、常法により 10% 水酸化ナトリウム水溶液にて加水分解を行った。20% クエン酸水溶液で中和後クロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、I-o-P-diAsp (56) を得た。(56 mg、35.0%)

【0052】実施例 22

実施例 21 の中間体として得られる I-o-P 180 mg をピリジン 60 ml に溶解し、50℃加温攪拌下ヒドロキシルアミン塩酸塩 1.2 g を加え、40 分間反応せし

めた。反応後、反応液に 20% クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (溶離液: 酢酸エチル-メタノール) にて精製し、NOH-I-o-P 110 mg を得た。得られた NOH-I-o-P を常法により DCHA 塩とした。本 DCHA 塩全量をクロロホルム 20 ml およびアセトニトリル 10 ml を加えて溶解し、次いでアスパラギン酸 ジメチルエステル塩酸塩 110 mg を加え、攪拌下に、WSC 110 mg を徐々に加えて反応せしめた。反応後、反応液を水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をエタノールに溶解し、常法により 2N 水酸化カリウム水溶液にて加水分解を行った。20% クエン酸水溶液で中和後クロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NOH-I-o-P-diAsp (57) を得た。(80 mg、33.8%)

【0053】実施例 23

P-Me 300 mg をピリジン 50 ml に溶解し、室温攪拌下にアセトフェノン 5 ml と p-アミノアセトフェノンをそれぞれ別々に加えた。10% 水酸化ナトリウム水溶液をそれぞれに 6 ml ずつ加えて 3 時間反応せしめた。反応後、それぞれの反応液に 10% 水酸化ナトリウム水溶液 15 ml を加え 20% クエン酸水溶液にて中和後クロロホルム抽出を行い、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られたそれぞれの濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、PhCO-P (58) および $\text{NH}_2\text{PhCO-P}$ (59) を得た。(220 mg、65.4% および 180 mg、52.6%)

【0054】実施例 24

NOH-P 150 mg をテトラヒドロフラン 5 ml に溶解し、DCHA 90 mg をジエチルエーテル 1.5 ml に溶解した液を加え常法にて DCHA 塩とした。本 DCHA 塩全量をジメチルホルムアミド 18 ml に溶解し、10% 塩酸 D-グルコサミン水溶液 4 ml を加え、50℃加温攪拌下に 2.5% DCC のクロロホルム溶液 6 ml を徐々に加え 2.5 時間反応せしめた。反応後、反応液に 20% クエン酸水溶液とクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-クロロホルム-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、NOH-P-NHglu (60) を得た。(40 mg、20.6%)

【0055】実施例 25

質量分析

FAB 質量分析法により本誘導体の質量を測定した。その測定結果の主なものを表 1 に示す。その代表例として、 $\text{C}_6\text{-Pd-DP-diAsp}$ (21) および NOH-P (35) ジメチルエステルの FAB 質量分析スペクトルを図 1 および図 2 に示す。

【0056】

【表1】

化合物	分子式	分子量	MH ⁺	M ⁺	MH- 2H ₂ O ⁺
(4) C ₆ -DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₂	997.20	997		/
(10) C ₆ -Ga-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₄ Ga	1099.93			1064
(18) C ₁₀ -Ga-DP-diAsp	C ₆₂ H ₈₀ N ₆ O ₁₄ Ga	1212.15			1175
(20) C ₆ -Zn-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₀ N ₆ O ₁₂ Zn	1060.57		1058	/
(21) C ₆ -Pd-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₀ N ₆ O ₁₂ Pd	1100.41		1100	/
(22) C ₆ -In-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₄ In	1145.03			1109
(23) C ₆ -Sn-DP-diAsp	C ₅₄ H ₇₂ N ₆ O ₁₄ Sn	1147.90		1147	/
(32) C ₆ -P-diAsp(OMe)	C ₅₂ H ₆₆ N ₆ O ₁₃	982.47	983	982	/
(34) C ₁₀ -P-diAsp(OMe)	C ₅₆ H ₇₄ N ₆ O ₁₃	1038.53	1039	1038	/
(35) NOH-P-Me	C ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₆	637.74	638	637	/
(36) SP-Me	C ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₇	624.69	625	624	/
(55) Me ₂ CO-P-diAsp	C ₄₅ H ₄₈ N ₆ O ₁₂	864.91	865	864	/
(56) Io-P-diAsp(OMe)	C ₅₆ H ₇₀ N ₆ O ₁₂	1055.24	1055		/

【0057】実施例 26

核磁気共鳴分析

核磁気共鳴 (¹H-NMR) 法により本誘導体を測定した。その代表例として、C₆-DP-diAsp (4) および C₁₀-In-DP-diAsp (26) の¹H-NMRスペクトルを図3および図4に示す。

【0058】実施例 27

紫外線吸収スペクトル分析 (アルブミンテスト)

ポルフィリン化合物はアルブミン溶液中で、単量体あるいは二量体を形成することが知られている。この性質はアルブミン濃度を種々変えて分析を行うことで極大吸収値の移動または吸光係数の変動がみられることで分かる。したがって癌細胞との親和性を検討するには簡単なスクリーニングテストである。アルブミン54mgを3mlの生理食塩水に溶解し、1.8%濃度とする。次いでこれを10倍希釈して0.18%とした液を公比3で

希釈して各アルブミン濃度 (1.8、0.18、0.06、0.02、0.0066、0.0022%) の液を調製した。一方、ポルフィリン誘導体1mgをリン酸緩衝液 (pH8.0) 1mlに溶解し、生理食塩水で100mlにした。そしてアルブミン希釈液2mlとポルフィリン溶液2mlを混合し、混液のアルブミン濃度を0.9、0.09、0.03、0.01、0.0033、0.0011%とし紫外線吸収スペクトル測定 (350~900nm) を行った。またアルブミン希釈液のかわりに生理食塩水およびメタノール溶液中でも同様に測定した。これらの測定結果を表2に示す。その代表例として、C₁₀-Ga-DP-diAsp (18) の紫外線吸収スペクトルを図5および図6に示す。

【0059】

【表2】

化 合 物 名	波 長 (nm)		
	生理 食塩水	メタノー ル	0.9 %ア ルブミン
(4) C ₆ -DP-di Asp	396	397	400
(18) C ₁₀ -Ga-DP-di Asp	401	401	408
(28) NaHSO ₃ -P-Me	672	663	668
(35) NOH-P	666	667	671
(37) G' THZ-P	698	670	674
(38) N ₂ OH-P	658	660	662
(39) 2NOH-SP	675	673	676
(40) NOAc-P	668	666	671
(41) [*] BuHZ-P	657	661	663
(42) GHZ-P	691	671	691
(43) NHZ-P	675	671	675
(45) CHZ-P	669	670	673
(46) BA-P	787	721	786
(47) NH ₂ CONHN-P	691	671	675
(48) NH ₂ CSNHN-P	694	672	676
(49) BT-P	682	671	683
(50) MCN-P	729	698	723
(51) NO ₂ -P	668	667	672
(52) MeNO ₂ -P	668	666	671
(53) EtNO ₂ -P	670	668	672
(60) NOH-P-NHglu	—	669	—

【0060】実施例 28

光照射による光殺細胞効果の判定 (in vitro)
特開平2-138280号に掲げた方法により試験を行
った。HGC-27細胞 1×10^4 個(1ml)をペト
リ皿(3.5cm)に入れ2日間培養した。各薬剤を種
々の濃度に調製し、先のペトリ皿に加え30分間培養
し、リン酸緩衝液で洗浄した。2~3分放置後 col
d spot PICL-SX(halogen la
mp 150W)5分間(5.8mw/cm²)光照射
した。なお光照射は600nm以下の波長をカットして
行った。その後、48時間培養し、生存細胞数を計測し

た。一方、対照として光照射中アルミホイルにて光を遮
断した群を設けた。光細胞破壊破壊率はID₅₀(50%
細胞増殖阻害率)により求めた。図7にC₆-DP-d
i Asp(4)および図8にC₁₀-Zn-DP-di
Asp(24)による細胞増殖阻害率のグラフを示す。

【0061】実施例 29

C₆-DP-di Asp(4)、C₁₀-Ga-DP-
di Asp(18)およびNOH-P(35)注射液の
調製

C₆-DP-di Asp(4)、C₁₀-Ga-DP-
di Asp(18)およびNOH-P(35)5gをそ

れぞれ別々にリン酸緩衝液 (pH 8.0) 90 ml を加えて溶解し、ついで pH 調整のため 0.1 N 水酸化ナトリウム 10 ml を加えて全量をそれぞれ 100 ml (50 mg/ml, pH 7.3) とした。次いで無菌濾過を行いながら無菌バイアルに 5 ml ずつ分注し、PDT 用薬剤とした。さらに必要に応じ分注後、使用時まで凍結保存した。

【0062】実施例 30

C₆-DP-di Asp (4) 注射液の TLC および HPLC における純度

実施例 29 で得られた C₆-DP-di Asp (4) 注射液の適量をオクチルシリカゲル (C₈) 薄層板 (RP-8、メルク社製) 上、メタノール-水混液 (9:1) を用いて展開した。その結果 Rf 0.5 付近にのみスポットを認めた。さらに、HPLC 分析 [カラム; ワコーシル 5 C₈ 4.0 × 150 mm、溶離液; メタノール: 水: 酢酸 (80:15:5)、流速; 1.0 ml/min、検出波長: 395 nm] を行ったところ、Rt 6.3 分に 1 本のピークを認め純度は 90% 以上であった。

【0063】実施例 31

C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) 注射液の TLC および HPLC における純度

実施例 29 で得られた C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) 注射液の適量をオクチルシリカゲル (C₈) 薄層板 (RP-8、メルク社製) 上、メタノール-水混液 (95:5) を用いて展開した。その結果 Rf 0.5 付近にのみスポットを認めた。さらに、HPLC 分析 [カラム; ワコーシル 5 C₈ 4.0 × 150 mm、溶離液; メタノール: 水: 酢酸 (85:10:5)、流速; 1.0 ml/min、検出波長; 405 nm] を行ったところ、Rt 5.9 分に 1 本のピークを認め純度は 95.0% 以上であった。

【0064】実施例 32

NOH-P (35) 注射液の TLC および HPLC における純度

実施例 29 で得られた NOH-P (35) 注射液の適量をオクタデシルシリカゲル (C₁₈) 薄層板 (RP-18、メルク社製) 上、メタノール-水混液 (4:1) を用いて展開した。その結果 Rf 0.5 付近にのみスポットを認めた。さらに、HPLC 分析 [カラム; ワコーシル 5 C₁₈ 4.0 × 250 mm、溶離液; メタノール: 水: 酢酸 (80:15:5)、流速; 0.5 ml/min、検出波長; 405 nm] を行ったところ、Rt 7.8 分に 1 本のピークを認め純度は 96.0% 以上であった。

【0065】実施例 33

C₆-DP-di Asp (4)、C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) および NOH-P (35) 注射液の *in vitro* 中での安定性

C₆-DP-di Asp (4)、C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) および NOH-P (35) 注射液の純度をそれぞれ経時的に TLC 分析および HPLC 分析することにより本薬剤の *in vitro* 中での安定性を評価した。実施例 29 に従って調製した C₆-DP-di Asp (4)、C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) および NOH-P (35) 注射液をそれぞれ生理食塩水で 5 倍に希釈し 10 mg/ml の濃度とし室温、遮光下に静置し、本剤調製時、1 日、1 週間、および 1 か月後に実施例 32 に準じて、各薬剤の TLC および HPLC 純度を測定した。その結果、各測定時点での各薬剤の化学的純度は TLC 分析では 4 を除いてそれぞれ 1 スポット、HPLC 分析では約 95.0%、および 95.0% であり各薬剤は少なくとも 1 か月安定であることが分かった。なお 4 は少なくとも 1 週間は安定であった。

【0066】実施例 34

C₆-DP-di Asp (4)、C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) および NOH-P (35) 注射液の新鮮凍結血漿 (*in vivo*) 中での安定性

C₆-DP-di Asp (4)、C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) および NOH-P (35) 注射液の血漿中での純度をそれぞれ経時的に TLC 分析および HPLC 分析することにより各薬剤の疑似 *in vivo* 中での安定性を評価した。実施例 29 と同様に調製した C₆-DP-di Asp (4)、C₁₀-Ga-DP-di Asp (18) および NOH-P (35) 注射液を生理食塩水でそれぞれ 2.5 倍に希釈し 20 mg/ml の濃度とし、これと同量の新鮮凍結血漿を加えて (10 mg/ml, pH 7.1)、体温 (36.5℃)、遮光下に静置し、各薬剤調製時、1 日、1 週間、2 週間、3 週間および 1 か月後に実施例 32 に準じて、各薬剤の TLC および HPLC 純度を測定した。その結果、各測定時点での各薬剤の化学的純度は TLC 分析ではそれぞれ 1 スポット、HPLC 分析では約 90.0%、95.0% および 95.0% であり各薬剤は少なくとも 1 か月間安定であることが分かった。

【0067】

【発明の効果】本発明のポルフィリン誘導体は癌細胞への集積性、外部エネルギーに対する反応性ならびに癌細胞の破壊作用を有し、しかも正常細胞に対して毒性を発現することがないから、癌治療薬あるいは癌診断薬として極めて有用である。

【図面の簡単な説明】

【図 1】C₆-Pd-DP-di Asp (21) の質量分析スペクトル (FAB-NBA) を示す図である。

【図 2】NOH-P (35) ジメチルエステルの質量分析スペクトル (FAB-NBA) を示す図である。

【図 3】C₆-DP-di Asp (4) の核磁気共鳴スペクトル (¹H-NMR) を示す図である。

【図4】 C_{10} -In-DP-diAsp (26) の核磁気共鳴スペクトル (1H -NMR) を示す図である。

【図5】 C_{10} -Ga-DP-diAsp (18) の紫外線吸収スペクトルを示す図である。

【図6】 C_{10} -Ga-DP-diAsp (18) の紫外線吸収スペクトルを示す図である。

【図7】 C_6 -DP-diAsp (4) 投与後の細胞増殖阻害率を示す図である。

【図8】 C_{10} -Zn-DP-diAsp (24) 投与後の細胞増殖阻害率を示す図である。

【符号の説明】

1 ポルフィリン溶液と生理食塩水の混液
(アルブミン濃度0%)

2 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液

(アルブミン濃度0.0011%)

3 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液
(アルブミン濃度0.0033%)

4 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液
(アルブミン濃度0.01%)

5 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液
(アルブミン濃度0.03%)

6 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液
(アルブミン濃度0.09%)

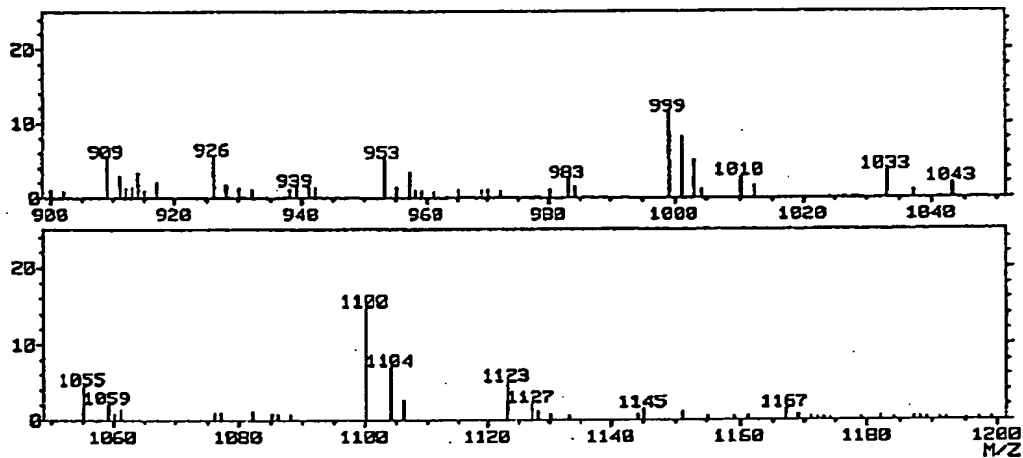
10 7 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液
(アルブミン濃度0.9%)

8 ポルフィリン溶液とメタノールの混液

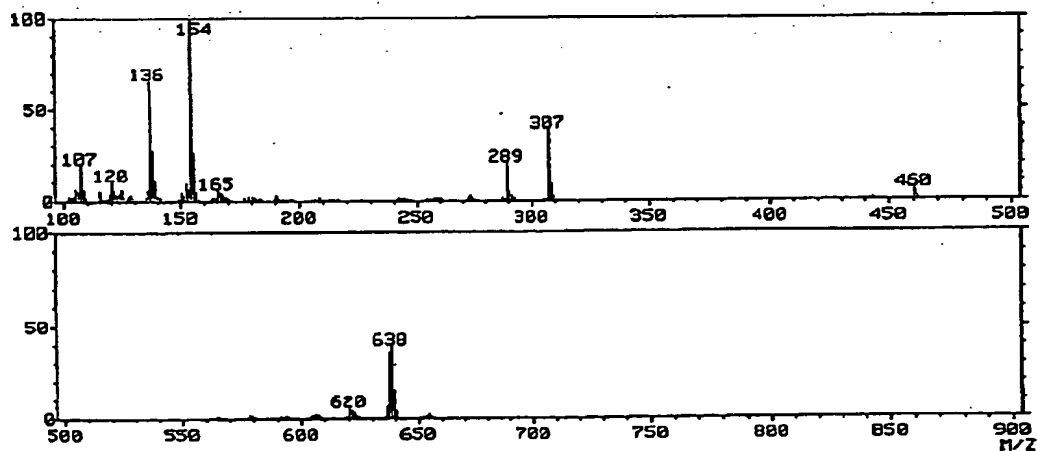
9 光照射有り

10 光照射無し

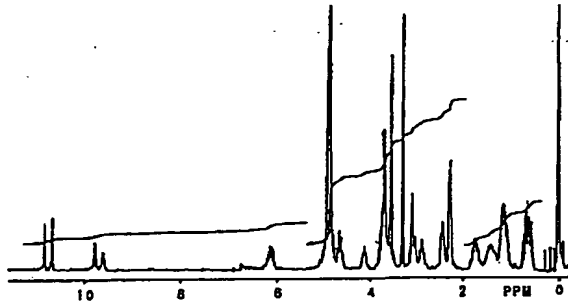
【図1】



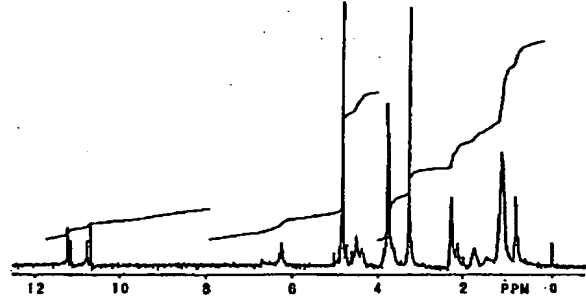
【図2】



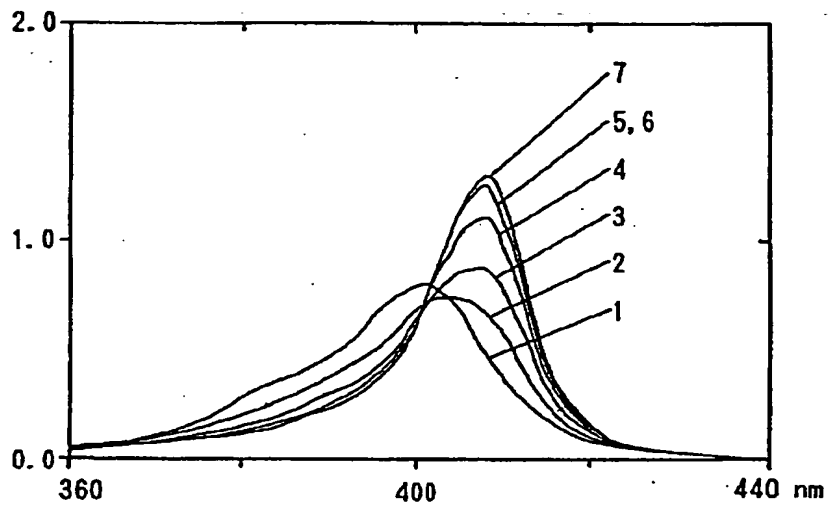
【図3】



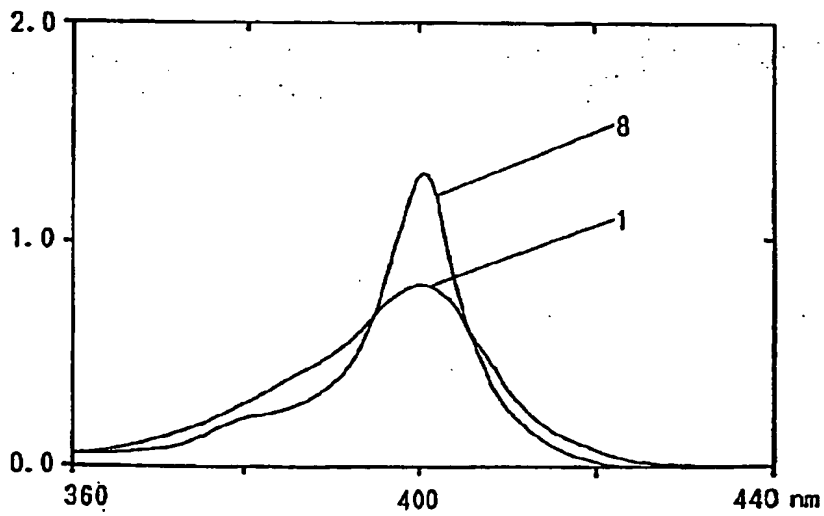
【図4】



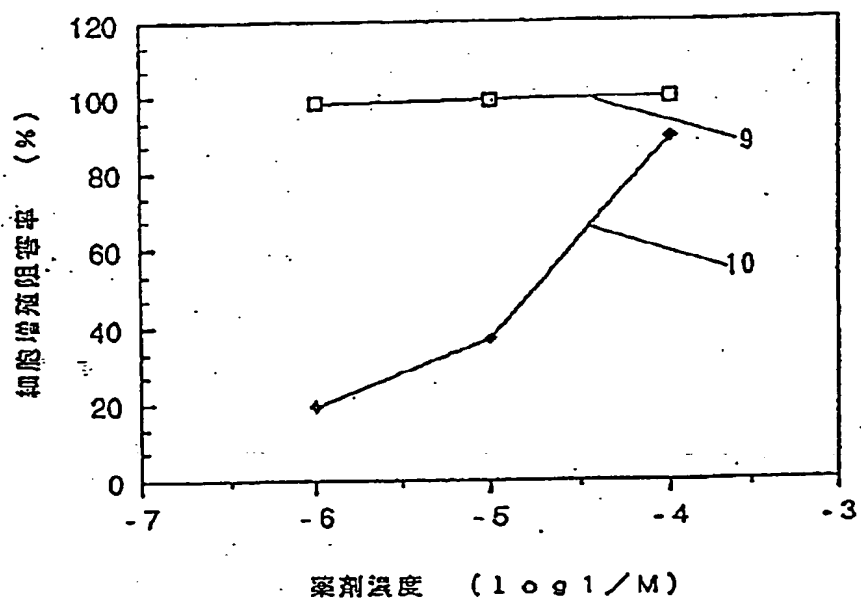
【図5】



【図6】



【図7】



【図8】

